



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

EVALUACIÓN NEUROFARMACOLÓGICA DE LAS HOJAS DE
Diospyros digyna Jacq.

**TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS
PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADA EN BIOLOGÍA**

**P R E S E N T A:
MARÍA JOSÉ ROMERO DE JESÚS**

DIRECTOR: DR. DAVID OSVALDO SALINAS SÁNCHEZ

CODIRECTOR: DR. DANTE AVILÉS MONTES

CUERNAVACA, MORELOS

Octubre 2023

El presente trabajo se realizó en:



Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación
Laboratorio de Fitoquímica y Productos Naturales
Universidad Autónoma del Estado de Morelos
Cuernavaca, Morelos, México.

Bajo la Dirección del Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez
y Codirección del Dr. Dante Avilés Montes.

Dedicatoria

Llena de amor y felicidad dedico este proyecto a mis padres, **Esperanza de Jesús Salcedo** y **José Antonio Romero García**, es para mi una gran satisfacción poder dedicar este trabajo a ustedes que con mucho esfuerzo, dedicación y trabajo logramos completar juntos, porque sin su apoyo esto no habría sido posible. Gracias por ser mis pilares y siempre creer en mi, por motivarme siempre que creo que no puedo hacer algo, por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, por enseñarme a valorar todo lo que tengo y por todos los sacrificios que hacen por mi día a día. Son mi mayor inspiración, los amo como a nada en el mundo. Gracias por ser los mejores papás que la vida me pudo dar.

A mis hermanos, **José Antonio Romero de Jesús** y **Yadira Paola Suárez Pérez**, por siempre confiar en mi, por ser mis mayores confidentes y sobre todo por ser mis hermanos y amigos. Gracias por siempre motivarme a ser mejor, por escucharme y por hacer todo lo que está en sus manos para ayudarme en todo momento, créanme que les agradezco desde el fondo de mi corazón.

A mis abuelos, **Cira Carmen García González** y **Norberto Ciro Romero Caro**, por darme tanto cariño y amor durante toda mi vida, por seguirme apoyando, por motivarme a seguir aprendiendo, por haber creído en mi potencial desde pequeña, por siempre mantener sus puertas y brazos abiertos para mi y por apapacharme mucho.

A **Ricardo Miranda Cruz**, por ser mi compañero, por todo tu apoyo, por estar siempre en las buenas y en las malas, por amarme y consentirme tanto, gracias por estar en mi vida y hacerla más divertida, por creer y confiar en mi y finalmente por enseñarme tanto.

Agradecimientos

Al Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez, por todo su tiempo y la orientación que me brindó durante este proyecto, por su comprensión ante momentos difíciles y sobre todo por su gran ayuda y aportes en mi formación. Dr David, gracias.

Al Dr. Dante Avilés Montes, por compartir conmigo tanto conocimiento, por la paciencia al explicarme los métodos y su constancia e interés por hacer que yo comprendiera la información en su totalidad, así como todo el tiempo invertido en mi formación. Dr Dante, gracias.

Al Dr. Jorge Alberto Cortes Morales, por ayudarme siempre que necesité su ayuda, por su disponibilidad para brindarme su conocimiento y experiencia. Dr Jorge, gracias.

A mis sínodo, Dra. Nayeli Monterrosas Brisson, M. en R.N. Juan Carlos Juárez Delgado, Dr. Manases González Cortazar, Biól. Nayeli Sánchez Guevara, por ser parte de mi formación y por el tiempo que me dedicaron durante este proyecto. A todos, gracias.

Al Biól. Juan Carlos Sandoval Manrique, por enseñarme tantas cosas durante mi servicio social y por darme la oportunidad de trabajar con él, por su comprensión y por todo el apoyo que me brindó.

A mi compañera Deyaneira Guadarrama Beltrán, por su apoyo y compañía brindada durante este proyecto, por la confianza y sobre todo por las pláticas que nos acompañaron durante los días completos que pasabamos en laboratorio. Deya, gracias.

A mis compañeras de trabajo con las que pasé casi todos los días, Dayanara Alessandra Horcasitas Ríos e Indra Suárez Gómez, gracias por ser mis amiguitas y hermanas postizas, las quiero mucho.

Índice

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTOS.....	II
ÍNDICE.....	III
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	V
ÍNDICE DE TABLAS.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VIII
RESUMEN.....	X
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1 DEPRESIÓN.....	4
2.1.1 Clasificación.....	5
2.1.2 Prevalencia	6
2.1.3 Fisiopatología de la Depresión	7
2.1.4 Tratamiento.....	11
2.1.4.1 Efectos secundarios indeseables.....	13
9.8.1 Mecanismo de acción Imipramina.....	13
2.2 ANSIEDAD	15
2.2.1 Clasificación.....	16
2.2.2 Prevalencia	17
2.2.3 Fisiopatología de la ansiedad	18
2.2.4 Tratamiento.....	19
2.2.4.1 Efectos secundarios indeseables.....	20
9.8.2 Mecanismo de acción Diazepam.....	21
2.3 EPILEPSIA	23
2.3.1 Clasificación.....	24
2.3.2 Prevalencia	25
2.3.3 Fisiopatología de la epilepsia.....	25
2.3.4 Tratamiento.....	28
2.3.4.1 Efectos secundarios indeseables.....	29
9.8.3 Mecanismo de acción Pentilentetrazol (Metrazol)	29
2.4 INSOMNIO.....	30
2.4.1 Clasificación.....	31
2.4.2 Prevalencia	32
2.4.3 Fisiopatología del insomnio.....	32
2.4.4 Tratamiento.....	33
2.4.4.1 Efectos secundarios indeseables.....	34
9.8.4 Mecanismo de acción Pentobarbital.....	35
3. MODELOS FARMACOLÓGICOS	36
3.1 MODELO DE NADO FORZADO (NF)	36
3.2 MODELO DE LABERINTO ELEVADO EN FORMA DE CRUZ (LEC).....	37
3.3 MODELO DE CAMPO ABIERTO (CA)	37
3.4 MODELO DE POTENCIACIÓN DEL ESTADO HIPNÓTICO DEL PENTOBARBITAL.....	38
3.5 MODELO DE CONVULSIONES INDUCIDAS CON PENTILENTETRAZOL	38

4. ANTECEDENTES DE LA PLANTA A ESTUDIAR	39
4.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	40
4.2 ANTECEDENTES DEL GÉNERO <i>DIOSPYROS</i>	41
4.3 USOS Y EMPLEO ETNOMÉDICO.....	45
4.4 FARMACOLOGÍA Y FITOQUÍMICA.....	45
5. JUSTIFICACIÓN	47
6. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	47
7. HIPÓTESIS.....	47
8. OBJETIVOS	48
8.1 OBJETIVO GENERAL.....	48
8.2 OBJETIVOS PARTICULARES	48
9. MATERIAL Y MÉTODOS.....	49
9.1 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	49
9.2 METODOLOGÍA GENERAL.....	49
9.3 COLECTA DEL MATERIAL VEGETAL	50
9.4 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS.....	50
9.5 FRACCIONAMIENTO QUÍMICO DE DDEM	51
9.6 CROMATOGRAFÍA EN PLACA FINA (CCF).....	52
9.7 ANÁLISIS POR HPLC	52
9.8 TRATAMIENTOS.....	53
9.6 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.....	54
9.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	54
10. PRUEBAS FARMACOLÓGICAS.....	54
10.1 NADO FORZADO (NF).....	55
10.2 LABERINTO ELEVADO EN FORMA DE CRUZ (LEC).....	56
10.3 CAMPO ABIERTO (CA).....	56
10.4 POTENCIACIÓN DEL ESTADO HIPNÓTICO DEL PENTOBARBITAL	57
10.5 CONVULSIONES INDUCIDAS CON PENTILENTETRAZOL.....	57
F) TIEMPO DE MUERTE (EN CASO DE PRESENTARSE). 11. RESULTADOS.....	58
11.1 RENDIMIENTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE <i>DIOSPYROS DIGYNA</i> JACQ.	58
11.2 RESULTADOS DEL DdEM EN LA PRUEBA DE NADO FORZADO (NF).....	59
11.3 RESULTADOS DEL DdEM EN LA PRUEBA DE LABERINTO ELEVADO EN FORMA DE CRUZ (LEC).....	59
11.4 RESULTADOS DEL DdEM EN LA PRUEBA DE CAMPO ABIERTO (CA).....	61
11.5 RESULTADOS DEL DdEM EN LA PRUEBA DE POTENCIACIÓN DEL PENTOBARBITAL.....	63
11.6 RESULTADOS DEL DdEM EN LA PRUEBA DE CONVULSIONES INDUCIDAS CON PENTILENTETRAZOL.....	64
11.7 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA	67
11.8 ANÁLISIS DE HPLC	75
12. DISCUSIÓN	77
13. CONCLUSIONES	82
14. PERSPECTIVAS.....	83
15. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

Índice de abreviaturas

λnm Nanómetro.

μL Microlitros.

BDMTM Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana.

CA Campo abierto.

CC Cromatografía en columna.

CCF Cromatografía en capa fina.

CIP Convulsiones inducidas con pentilentetrazol.

cm Centímetros.

Col. Colonia.

CONABIO Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.

D.S. Desviación estándar.

DdEA Extracto Acetónico de *Diospyros digyna*.

DdEH Extracto Hexánico de *Diospyros digyna*.

DdEM Extracto Metanólico de *Diospyros digyna*.

DM Depresión mayor.

DZP Diazepam.

ENEP Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica.

g Gramos.

GABA Ácido gamma-aminobutírico.

h Hora.

HPLC Cromatografía líquida de alta resolución.

HUMO Herbario del Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos

i.p. Intra-peritoneal.

IMAO Inhibidores de la enzima monoamino oxidasa.

IMI Imipramina.

IMCP Instituto Mexicano de Contadores Públicos.

IMSS Instituto Mexicano del Seguro Social.

INEGI Instituto Nacional de Estadística y Geografía.

ISRS Inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina.

kg Kilogramos.

L Litro.

LEC Laberinto elevado en forma de cruz.

LUV Luz Ultravioleta.

m Metros.

mg Miligramos.

min Minutos.

mL Mililitros.

mm Milímetros.

n Número.

NCCDPHP Centro Nacional para la Prevención de Enfermedades Crónicas y Promoción de la Salud.

NF Nado forzado.

NIH Instituto Nacional de la Salud.

OMS Organización Mundial de la Salud.

OPS Organización Panamericana de la Salud.

P. Ej. Por ejemplo.

PTZ Pentilentetrazol.

R Referencia.

SNC Sistema nervioso central.

TA Tiempo en brazos abiertos.

TC Tiempo en brazos cerrados.

tr Tiempo de retención.

UAEM Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

UV Ultravioleta.

v.o. Vía oral.

Veh Vehículo.

Índice de tablas

Tabla 1. Antidepresivos actuales utilizados para tratamiento de personas con trastornos depresivos y sus efectos secundarios indeseables.....	13
Tabla 2. Ansiolíticos actuales utilizados para tratamiento de personas con trastornos de ansiedad y sus efectos secundarios indeseables.....	20
Tabla 3. Anticonvulsivantes actuales utilizados para tratamiento de personas con trastornos epilépticos y sus efectos secundarios indeseables.....	29
Tabla 4. Sedantes-hipnóticos actuales utilizados para tratamiento de personas con trastornos de insomnio y sus efectos secundarios indeseables.....	35
Tabla 5. Antecedentes de actividad encontrada en diferentes especies del género <i>Diospyros</i> .	42
Tabla 6. Fraccionamiento químico de DdEM de <i>D. Digyna</i>	52
Tabla 7. Efecto anticonvulsivante del extracto metanólico de <i>Diospyros digyna</i>	67

Índice de figuras

Figura 1. Fisiopatología de la depresión.....	8
Figura 2. Mecanismo de acción Imipramina.....	14
Figura 3. Fisiopatología de la ansiedad.....	18
Figura 4. Receptor GABA _A y mecanismo de acción benzodiazepinas.....	21
Figura 5. Sitio de unión específico de las benzodiazepinas en el receptor GABA _A	22
Figura 6. Fisiopatología de la epilepsia.....	26
Figura 7. Sitio de unión específico del metrazol en el receptor GABA _A	30
Figura 8. Sitio de unión específico de los barbitúricos en el receptor GABA _A	36
Figura 9. <i>Diospyros digyna</i> Jacq. (Ebenaceae).....	40
Figura 10. Metodología empleada en el presente estudio.....	49
Figura 11. Maceración <i>Diospyros digyna</i>	51
Figura 12. Destilación a presión reducida para la obtención del extracto.....	51
Figuras 13-16. Etapas visualizadas del fraccionamiento químico en columna de DdEM.....	52
Figura 17. Formación de los grupos de ratones.....	53
Figura 18. Grupos de ratones en sus respectivas cajas.....	54
Figura 19. Prueba de nado forzado.....	55
Figura 20. Secado de ratones.....	55
Figura 21. Ratón en laberinto elevado en forma de cruz.....	56
Figura 22. Ratón en dispositivo de campo abierto.....	57
Figura 23. Estrategia de separación fitoquímica de <i>D. digyna</i>	58
Figura 24. Gráfica de resultados obtenidos de la prueba de nado forzado.....	59
Figura 25. Gráfica de resultados obtenidos de la prueba de laberinto elevado en forma de cruz.....	60
Figura 26. Gráfica de resultados obtenidos de parámetros de la prueba de laberinto elevado en forma de cruz.....	61
Figura 27. Gráfica de resultados obtenidos de la prueba de campo abierto.....	62
Figura 28. Gráfica de resultados obtenidos de parámetros de la prueba de campo abierto.....	63
Figura 29. Gráfica de resultados obtenidos de la prueba de potenciación del estado hipnótico del pentobarbital.....	64
Figura 30. Gráfica de resultados obtenidos de la prueba de convulsiones inducidas con pentilentetrazol.....	65

Figura 31. Gráfica del efecto sobre el número de convulsiones totales con la administración de DdEM en la prueba de convulsiones inducidas con pentilentetrazol.....	66
Figuras 32, 33. Placas de cromatografía en capa fina sin revelar del DdEH, DdEA y DdEM....	68
Figuras 34, 35. Placas de cromatografía en capa fina reveladas (NP-PEG y Komarovsky) del DdEH, DdEA y DdEM.....	68
Figuras 36, 37. Placas de cromatografía en capa fina fase reversa sin revelar del DdEH, DdEA y DdEM.....	69
Figuras 38, 39. Placas de cromatografía en capa fina fase reversa reveladas (NP-PEG y Komarovsky) del DdEH, DdEA y DdEM.....	69
Figuras 40, 47. Placas de cromatografía en capa fina de fracciones obtenidas.....	70
Figuras 48, 51. Placas de cromatografía en capa fina de reuniones realizadas con las fracciones.....	72
Figuras 52, 59. Placas de cromatografía en capa fina de reuniones reveladas con NP-PEG y reactivo de Komarovsky.....	73
Figura 60. Cromatograma de HPLC de DdEM.....	75
A) Flavona.....	76
B) Flavonol.....	76
C) Flavona.....	76
D) Rutinosido de kaempferol.....	76
E) Rutina.....	76
F) Glucósido de luteolina.....	76

Resumen

Diospyros digyna Jacq. (Ebenaceae) es un árbol que se encuentra presente en la selva baja caducifolia en la Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla, pobladores de las comunidades de esta reserva la usan para calmar los nervios, habiéndose aislado flavonoides con efecto antioxidante de esta planta. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto farmacológico de un extracto metanólico (DdEM) sobre el sistema nervioso central. El material colectado se secó y molió (500 g) se extrajo con *n*-hexano, acetona y metanol (2,750 mL de cada disolvente) 3 días/3 ocasiones, con la finalidad de separar el mayor número de compuestos de polaridad baja y media y utilizar el extracto con los compuestos más polares. Los rendimientos en la extracción fueron: *n*-hexano (DdEH) 2.87%, acetona (DdEA) 8.55%, metanol (DdEM) 1.51%. El DdEM se administró a ratones CD-1 (50, 150, 200, 250 mg/kg, v.o.), el vehículo fue agua (v.o.). Los modelos farmacológicos empleados fueron: nado forzado (NF), para evaluar efecto antidepressivo, laberinto elevado en forma de cruz (LEC) para determinar el efecto ansiolítico, campo abierto (CA) para evaluar el efecto sedante, convulsiones inducidas con pentilentetrazol (CIP), para evaluar el efecto anticonvulsivo y por último para evaluar el efecto hipnótico, se utilizó la prueba de potenciación del efecto hipnótico del pentobarbital. Para el análisis de HPLC de DdEM se utilizó un cromatógrafo de líquidos Waters-2695 con un detector de arreglo de fotodiodos Waters-2996. Los resultados obtenidos, nos muestran que en NF las dosis de 50-250 mg/kg de DdEM disminuyeron el tiempo de inmovilidad ($p < 0.001$) comparado con el vehículo. En LEC la dosis de 150 mg/kg de DdEM aumentó el porcentaje de permanencia en los brazos abiertos ($p < 0.001$) en comparación con el vehículo. En CIP las dosis de 50-250 mg/kg protegieron de la muerte al 100% de los ratones, la dosis de 100 mg/kg disminuyó el número de convulsiones totales con una significancia de $p < 0.05$ en comparación con el vehículo, las dosis de 50, 150, 200 y 250 mg/kg disminuyeron el número de convulsiones totales con una significancia de $p < 0.001$ en comparación con el vehículo. A través de cromatografía en capa fina se determinó la presencia de compuestos de tipo flavonoide. El cromatograma de HPLC de DdEM presentó espectros de absorción que corresponden a flavonoides, se determinaron una flavona $t_r= 8.40$ min, un flavonol $t_r=8.64$ min, una flavona $t_r=8.78$ min rutinósido de kaempferol $t_r= 8.90$ min, rutina $t_r=$

9.070 min y glucósido de luteolina $t_r = 9.431$ min, de acuerdo con los resultados obtenidos se concluye que DdEM presentó efecto antidepresivo.

1. Introducción

La medicina tradicional mexicana se ha utilizado desde hace miles de años, siendo aún una práctica vigente, teniendo tasas notablemente mayores en poblaciones rurales e indígenas a comparación de poblaciones urbanas, aunque el 80% de la población mundial la utiliza de manera rutinaria para atender necesidades médicas, utilizando en su mayor parte extractos de plantas o principios activos de estas (Akerlele, 1993; Sheldon *et al.*, 1997; Shrestha y Dhillion, 2003; Katewa *et al.*, 2004). Se define una planta medicinal como una especie vegetal que contiene sustancias que permiten su empleo para propósitos terapéuticos o cuando contenga principios activos de los cuales se puedan comprobar efectos por medio del método científico y posteriormente usarlos como precursores para la síntesis de nuevos fármacos.

La salud mental es parte integral de la salud y del bienestar, según la Organización Mundial de la Salud [OMS] 2004; esta puede se define como: “un estado de completo bienestar físico, mental y social, que permite a los individuos realizar sus habilidades, afrontar el estrés normal de la vida, trabajar de manera productiva y fructífera, y hacer una contribución significativa a sus comunidades”. Sin embargo, esta ha sido objeto de abandono e indiferencia. La carga de los trastornos mentales en la Región de las Américas, (2018); menciona que las enfermedades mentales se consideran cada vez más una prioridad mundial en materia de salud, y dada su carga económica, también se las está empezando a considerar una prioridad de desarrollo mundial.

El uso de plantas medicinales fue durante mucho tiempo, el único recurso del que disponía la medicina de muchas comunidades, gracias a esto, se profundizó en el conocimiento sobre sus propiedades y el empleo de éstas en productos fitoterapéuticos. Algunos de los padecimientos mentales que han sido tratados por la medicina tradicional y que están documentados mediante varios estudios son principalmente la ansiedad, el insomnio y la depresión (Ofelia *et al.*, 2019).

Estos últimos, son los trastornos mentales más comunes, con una gran incidencia en la pérdida de productividad y calidad de vida, representando así un gasto extra para las personas que lo padecen. La ansiedad y la depresión son en la actualidad, enfermedades tan comunes que, según los estudios realizados por la Dirección General de Comunicación Social en el 2019, se señala que 15 de cada 100 mexicanos padecen depresión, y alrededor de un cuarto de la población mundial padece un trastorno mental esquizoide, depresión, ansiedad o fobias agudas.

Un estudio en la evaluación de los Servicios de Salud Mental en México en 2015 presentó un total de 4'936,614 de casos de depresión, que equivale a un 4.2% de la población general (OPS, 2017). Además, alrededor de 4'281,809 personas padecen el trastorno de ansiedad, lo que representa un 3.6% de la población total (OPS, 2017). De esta manera, la OMS 2013, hace hincapié en que las personas con trastornos mentales presentan tasas desproporcionadamente elevadas de discapacidad y mortalidad, en el plan de acción sobre la salud mental 2013-2020, se plantea que las personas con depresión mayor o esquizofrenia tienen una probabilidad de muerte prematura un 40% a 60% mayor que la población general, debido a los problemas de salud física, que a menudo no son atendidos (por ejemplo, cánceres, enfermedades cardiovasculares, diabetes e infección por VIH), y al suicidio. A nivel mundial, el suicidio es la segunda causa más frecuente de muerte en los jóvenes.

Hoy en día no existe un medicamento para tratar estos padecimientos que no conlleve efectos secundarios desagradables, los síntomas más comunes de estos efectos secundarios son: náuseas, aumento de peso o somnolencia, en casos extremos incluso se pueden presentar convulsiones, urticaria, ictericia, delirios, psicosis, discrasia sanguínea o hipotensión. Sumando a esto, en el periodo 2010-2015 el presupuesto aprobado para salud mental presentó un comportamiento creciente y pasó de menos de 1 a 2.2% del total destinado a salud, aun así, los porcentajes y cifras absolutas son aún muy lejanas a las recomendadas por la OMS, y a las presentadas por el Instituto de Salud Pública de México a través del estudio; "La salud mental en el ámbito poblacional" (Katz, 2017).

Estos datos permiten apreciar que la problemática sanitaria en relación con los diferentes trastornos mentales es preocupante a nivel mundial y nacional. Por esta razón, la continua mejora y la investigación para profundizar el conocimiento sobre posibles tratamientos es vital, pues una mejora en el tratamiento iría de la mano con un aumento en la calidad de vida de las personas que pudieran padecer cualquiera de estos tratamientos.

En este proyecto se evaluó el efecto farmacológico de las hojas de *Diospyros digyna* Jacq. sobre el sistema nervioso; se empleó una batería de pruebas farmacológicas para evaluar el efecto antidepresivo (prueba de nado forzado, NF), efecto ansiolítico (modelo de laberinto elevado en forma de cruz, LEC), efecto sedante (prueba de campo abierto, CA), efecto hipnótico (modelo de potenciación del estado hipnótico del pentobarbital) y efecto anticonvulsivo (modelo de convulsiones inducidas con pentilentetrazol). Estas son pruebas validadas a nivel mundial en la búsqueda de efectos farmacológicos de extractos con actividad a nivel del sistema nervioso.

2. Antecedentes

2.1 Depresión

Según la OMS (2019), la depresión es un trastorno mental frecuente y una de las principales causas de discapacidad en todo el mundo. Afecta a más de 300 millones de personas en todo el mundo, con mayor prevalencia en las mujeres que en los hombres.

Los pacientes se caracterizan por presentar tristeza, pérdida de interés y de la capacidad de disfrutar, sentimientos de culpa o baja autoestima, trastornos del sueño o del apetito, cansancio y falta de concentración. También puede presentar diversos síntomas físicos sin causas orgánicas aparentes. La depresión puede ser de larga duración o recurrente, y afecta considerablemente a la capacidad de llevar a cabo las actividades laborales y académicas y de afrontar la vida cotidiana. En su forma más grave, puede conducir al suicidio (OPS, 2020).

La depresión de leve a moderada se puede tratar eficazmente con terapias que utilizan el diálogo, tales como la terapia cognitivo-conductual o la psicoterapia. Los antidepresivos pueden ser un tratamiento eficaz para la depresión de moderada a grave, pero no son el tratamiento de elección para la depresión leve (NIH, 2021).

En la depresión pueden presentarse alteraciones las cuales sugieren una disfunción del hipotálamo. La serotonina y la noradrenalina son neurotransmisores asociados a los trastornos de depresión, en donde un déficit en la transmisión de estos durante la sinapsis es la principal causa de la depresión, estos neurotransmisores se encuentran en el núcleo del rafe y locus coeruleus, estos tienen comunicación con la corteza e hipocampo (Avula *et al.*, 2022).

2.1.1 Clasificación

Según la OMS, dependiendo del número y de la intensidad de los síntomas, los episodios depresivos pueden clasificarse como leves, moderados o graves.

Trastorno depresivo recurrente: se caracteriza por repetidos episodios de depresión. Durante estos episodios, hay estado de ánimo deprimido, pérdida de interés y de la capacidad de disfrutar, y reducción de la energía que produce una disminución de la actividad, todo ello durante un mínimo de dos semanas. También es frecuente que se padezcan síntomas de ansiedad, alteraciones del sueño y del apetito, sentimientos de culpa y baja autoestima, dificultades de concentración e incluso síntomas sin explicación médica.

Trastorno afectivo bipolar: consiste característicamente en episodios maníacos y depresivos separados por intervalos con un estado de ánimo normal. Los episodios maníacos cursan con estado de ánimo elevado o irritable, hiperactividad, logorrea, autoestima excesiva y disminución de la necesidad de dormir.

Por otro lado, en el Manual de Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales del 2013, se menciona que dicha clasificación incluye la depresión mayor, depresión menor, trastorno distímico y trastorno adaptativo.

Depresión mayor: presencia de cinco o más de los siguientes síntomas: estado de ánimo depresivo, disminución marcada del interés o anhedonia, pérdida importante de peso en ausencia de dieta o ganancia de peso, insomnio o hipersomnia, agitación o lentificación psicomotora, fatiga o pérdida de energía, sentimientos excesivos de inutilidad o culpa, disminución de la capacidad para concentrarse, pensamientos recurrentes de muerte o suicidio. Al menos uno de los síntomas debe ser estado de ánimo depresivo o disminución de interés o anhedonia. Los síntomas persisten más de dos meses, no se explican por otras enfermedades o duelo y provocan malestar clínicamente significativo o deterioro funcional.

Depresión menor: presencia de a lo menos dos, pero menos de cinco síntomas de la depresión mayor (DM). Los síntomas persisten más de dos semanas, no se explican por otras enfermedades o presencia de duelo y provocan malestar

clínicamente significativo o deterioro funcional. Diagnóstico sólo es posible en ausencia de historia de DM, distimia, bipolar o alteraciones psicóticas.

Trastorno distímico: presencia de estado de ánimo depresivo y dos o más de los síntomas de la depresión mayor: pérdida o aumento de apetito, insomnio o hipersomnia, fatiga, sentimientos excesivos de inutilidad o culpa, dificultad para concentrarse o tomar decisiones, sentimientos de desesperanza. Duración de dos años y sin períodos de ausencia de síntomas de más de dos meses. Ausencia de episodios de DM. Provocan malestar significativo y deterioro funcional.

Trastorno bipolar: cumple criterio de DM y tiene antecedentes de al menos un episodio maníaco o episodio mixto. No deben superar los seis meses después de retirado el evento estresante y provoca malestar significativo o deterioro funcional.

Trastorno adaptativo con ánimo depresivo: sujetos que desarrollan estado de ánimo depresivo, tendencia al llanto o desesperanza en los tres meses posteriores a un evento estresante. El duelo no es considerado un evento estresante.

2.1.2 Prevalencia

La depresión representa un problema de salud pública debido a su alta prevalencia alrededor del mundo. La etiología de la depresión es compleja ya que en ella intervienen factores psicosociales, genéticos, y biológicos, cada año más personas alrededor de todo el mundo son diagnosticadas con depresión, dentro de las cuales se encuentran muchos adolescentes y adultos jóvenes. El impacto de los factores psicosociales en la población adolescente y en los adultos jóvenes pueden exacerbar la intensidad de la enfermedad y aumentar exponencialmente las ideaciones suicidas, los intentos suicidas e incluso lograr el cometido con éxito (Corea Del Cid, 2021).

Las prevalencias observadas en los Estados Unidos, Europa y Brasil son más elevadas ya que más de 15% de población ha padecido depresión mayor alguna vez en su vida y más del 6% durante el año anterior. En Estados Unidos se reporta que alrededor de uno de cada cinco adultos mayores de 18 años presentaron sintomatología asociada con el trastorno depresivo en el 2019. En México los

trastornos de depresión ocupan el primer lugar de discapacidad para las mujeres y el noveno para los hombres. Los datos de la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica (ENEP) en México señalan que el 9.2% de los mexicanos sufrieron un trastorno afectivo en algún momento en su vida y 4.8% en los doce meses previos al estudio (Corea Del Cid, 2021)

Según un estudio de la OMS realizado en el 2022, durante la pandemia por el SARS-CoV-2 los porcentajes de la población que padecen depresión y ansiedad han aumentado 25%, una de las principales causas de este aumento es el estrés ocasionado por el aislamiento social, sumando las limitaciones de la capacidad de las personas para trabajar, pedir ayuda a sus seres queridos y participar en la vida de sus comunidades, también se ha mencionado la soledad como un estrés, ya que iba de la mano con el miedo a contagiarse, sufrir y morir, o que algo le suceda a los seres queridos.

2.1.3 Fisiopatología de la Depresión

Debido a que la depresión es un trastorno multifactorial, ya que su desarrollo depende de diferentes causas que pueden interaccionar, ha sido difícil dilucidar su patología. Existen diferentes teorías neurobiológicas (**Figura 1**) que plantean su causa en el estrés psicosocial, o en alteraciones de las hormonas del estrés, neurotransmisores (serotonina, noradrenalina, dopamina, glutamato y ácido gamma-aminobutírico), los neurocircuitos, algunos factores neurotróficos y los ritmos circadianos (Hasler, 2010).

Teoría de la hormona del estrés: La teoría que sugiere una alteración de las hormonas del estrés plantea que la hormona liberadora de corticotropina (CRH) al estar mediada principalmente por la hiperactividad del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal (HHA), se libera desde el núcleo paraventricular del hipotálamo, siendo una respuesta fisiológica al estrés, que al mismo tiempo estimula la liberación de la hormona adrenocorticotropa o corticotrofina (ACTH) desde la hipófisis, la cuál por su parte estimula la liberación de glucocorticoides (GC) desde la corteza adrenal hacia la

circulación sanguínea (Dávila *et al.*, 2016). En pacientes deprimidos la secreción de cortisol no se suprime después de la administración de dexametasona; este es un esteroide artificial que reduce la secreción de corticotropina en personas normales uniéndose a los mismos receptores que el cortisol (Pardes *et al.*, 2007), por lo tanto, esta respuesta sugiere alteraciones en la regulación de retroalimentación e hiperactividad del eje HHA.

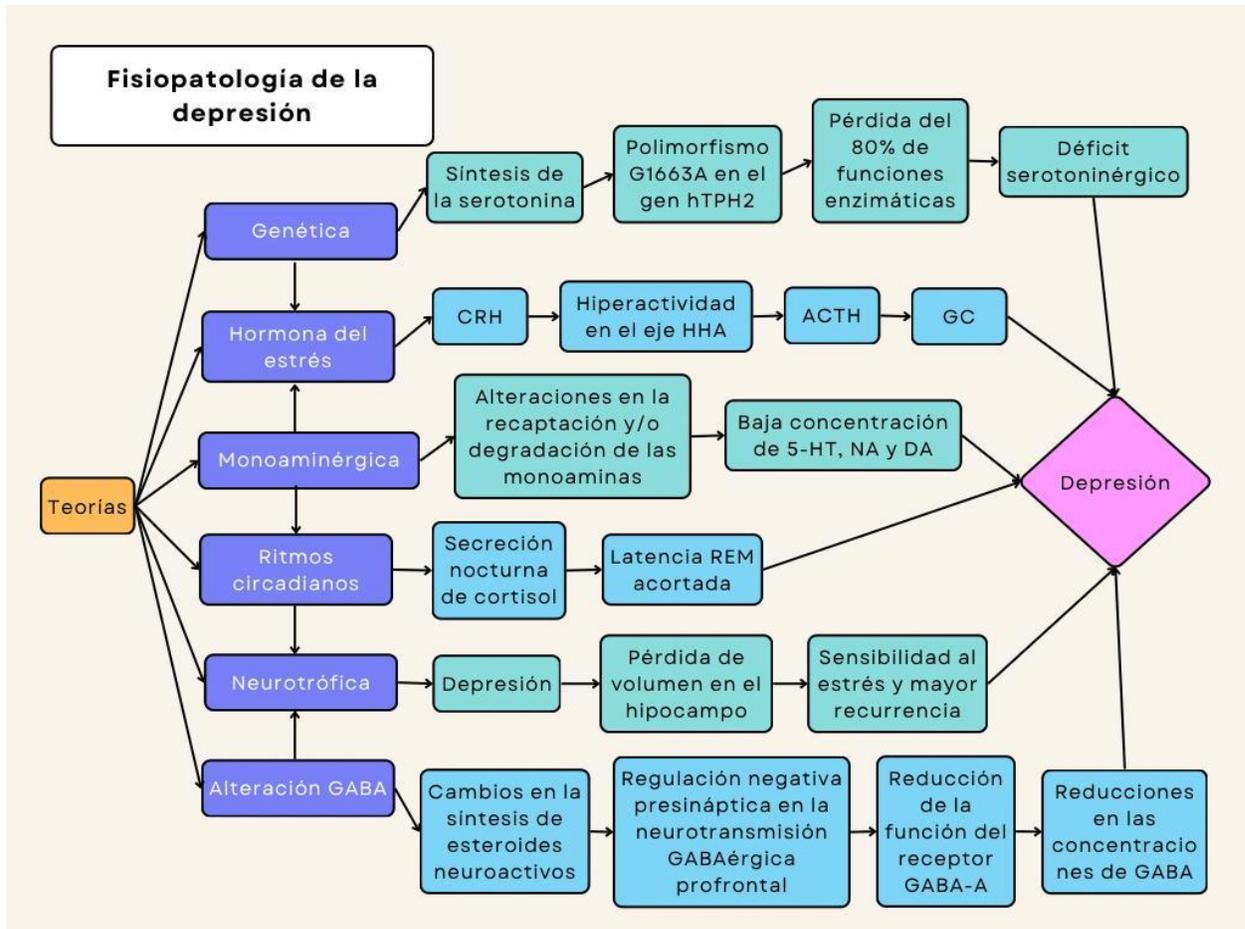


Figura 1. Fisiopatología de la depresión.

Teoría monoaminérgica: La mayoría de las neuronas serotoninérgicas, noradrenérgicas y dopaminérgicas se ubican en el núcleo del mesencéfalo y en el tronco encefálico, de ahí proyectándose a grandes áreas de todo el cerebro. Por lo que la teoría de la deficiencia de los neurotransmisores parte de la anatomía, ya que los sistemas monoaminérgicos participan en múltiples funciones cerebrales, como lo son el

estado de ánimo, la atención, el procesamiento de recompensas, el sueño, el apetito y la cognición. La mayor parte de los compuestos utilizados en los fármacos antidepresivos inhiben la recaptación o la degradación de las monoaminas, llevando a un incremento en la concentración de estas, demostrando ser antidepresivos clínicamente eficaces. En resumen, esta teoría postula que la base fisiopatológica subyacente de la depresión es el agotamiento de los neurotransmisores serotonina (5-HT), noradrenalina (NA) y dopamina (DA) en el sistema nervioso. Un metaanálisis reciente sobre anomalías en el volumen cerebral de 5-HT, NA y DA en pacientes con depresión mayor demuestran una mayor expresión de monoamino-oxidasa A (MAO-A) en la corteza prefrontal, corteza temporal, hipocampo, tálamo, mesencéfalo y el núcleo accumbens (NAc), suponiendo que la tasa de degradación de 5-HT y NA son un mecanismo fisiopatológico que atenúa la transmisión monoaminérgica (Dalton *et al.*, 2014).

Teoría genética: El polimorfismo G1663A en el gen hTPH2 sugiere que el déficit serotoninérgico parte de la síntesis de la serotonina, debido a que en el cambio de aminoácido resultan pérdidas del 80% de sus funciones enzimáticas. Esto se confirma en un estudio aplicado a 87 pacientes con depresión mayor, pues el 10% de ellos portaba el polimorfismo mencionado, a diferencia del resultado obtenido de una muestra de 219 individuos sanos, en los cuales solo el 1% lo presentaron.

Así mismo, alteraciones en los glucocorticoides podrían ejercer un efecto de retroalimentación negativa hacia el hipotálamo y la hipófisis, limitando el grado de activación del eje y promoviendo a su vez, un control excitador sobre el hipotálamo y este ejerce un control inhibitor sobre el eje, limitando su activación (Mourira *et al.*, 2011).

Teoría neurotrófica: Esta teoría parte del hecho de que los factores de riesgo en los episodios depresivos cambian conforme la enfermedad avanza. El primer episodio depresivo tiende a ser “reactivo”, desencadenado por importantes factores estresantes psicosociales, mientras que los episodios posteriores serían más

“endógenos” ya que serían desencadenados por factores estresantes menores. Ya existe evidencia consistente sobre la pérdida de volumen en el hipocampo y otras regiones cerebrales a causa de la duración de la depresión, esto sugiere que la depresión no tratada conduce a una mayor pérdida del hipocampo, siendo más sensible al estrés y con un gran factor de recurrencia. La pérdida de volumen cerebral en la depresión podría ser explicada por posibles mecanismos como la neurotoxicidad de los glucocorticoides, toxicidad glutamatérgica, disminución de factores neurotróficos y neurotóxicos (Guadarrama et al, 2006).

Teoría de la alteración glutamatérgica y la neurotransmisión GABAérgica: Algunos estudios de resonancia magnética mostraron reducciones consistentes en las concentraciones de GABA (ácido gamma-aminobutírico) en la corteza prefrontal y occipital en pacientes con depresión aguda, reflejando efectos provenientes de estados de estrés agudo, ya que el estado de estrés parecería inducir una regulación negativa presináptica en la neurotransmisión GABAérgica prefrontal. Adicionalmente, el estrés crónico reduce la función del receptor GABA_A, esto a través de posibles cambios en la síntesis de esteroides neuroactivos. Otras líneas de estudio han sugerido una disfunción del sistema neurotransmisor del glutamato en el tratamiento de la depresión mayor, pues la aplicación de una sola dosis de ketamina, la cuál es antagonista del receptor de glutamato N-metil-D-aspartato (NMDA), resultó en efectos antidepresivos rápidos y eficaces en pacientes con depresión mayor que habían presentado una resistencia a tratamientos monoaminérgicos. Siendo así, que los inhibidores de la liberación de glutamato como lo son la lamotrigina y el riluzol demostraron propiedades antidepresivas. Por último, niveles anormales de glutamato han sido encontrados en estudios en sujetos deprimidos, esto determinado mediante espectroscopia de resonancia magnética, así como señalización anormal de NMDA en preparaciones de tejido post mortem (Hasler, 2010).

Teoría de los ritmos circadianos: Algunos síntomas depresivos que son tomados como criterios de diagnóstico para la depresión mayor son los trastornos del sueño, la fatiga y las variaciones diurnas en el estado de ánimo, así como en la

psicomotricidad. En algunos pacientes con depresión mayor puede existir un trastorno del ritmo circadiano, por lo cual esta asociación se da entre el avance de las fases del ciclo sueño-vigilia, y los avances de estas fases en la secreción nocturna de cortisol; se ha notado una latencia de la fase REM acortada en sujetos con depresión mayor, esto aunado al efecto de los antidepresivos sobre el comportamiento de los ritmos circadianos, la fisiología y la endocrinología contribuyen a la base biológica de esta hipótesis. Aunque los fundamentos moleculares y genéticos de esta teoría son en gran medida desconocidos (Hasler, 2010).

2.1.4 Tratamiento

Debido a que la fisiopatología de la depresión tiene variaciones a lo largo de la enfermedad, así como que las teorías aplican solo a algunos tipos de pacientes deprimidos, pero no a otros, los tratamientos antidepresivos deben adaptarse a cada paciente y estado de enfermedad (Hasler, 2010).

Dependiendo de la severidad de los síntomas que se presenten, es recomendable la psicoterapia como tratamiento inicial en casos de depresión leve, basándose en la relación riesgo-beneficio. También se indica la psicoterapia en casos de depresión mayor cuando el paciente presenta contraindicaciones al tratamiento farmacológico, como el caso de embarazo, lactancia o enfermedades médicas complejas con polifarmacia (Barrera y Vergel, 2021).

En el tratamiento farmacológico existen diversos grupos de antidepresivos que se pueden indicar dependiendo del resultado que se busque de acuerdo con los síntomas presentados por el paciente, estos grupos son clasificados conforme a su mecanismo de acción:

- Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, ISRS (Citalopram)
- Inhibidores de la recaptación de serotonina-norepinefrina (Duloxetina)
- Antidepresivos atípicos

- Moduladores de serotonina (Trazodona)
- Inhibidores de la monoaminoxidasa, IMAO (Fenelzina)
- Antidepresivos tricíclicos, ATC (Imipramina).

Otros tratamientos homeópatas son utilizados también para tratar la depresión, como el caso de la planta *Hypericum perforatum*, que ha demostrado tener una actividad antidepresiva muy importante, siendo reconocida por la población a nivel mundial (Cantero, 2018).

2.1.4.1 Efectos secundarios indeseables.

Tabla 1. Antidepresivos actuales utilizados para tratamiento de personas con trastornos depresivos y sus efectos secundarios indeseables (BNM, 2022).

Medicamentos	Efectos secundarios indeseables
Vilazodona	Sarpullido, urticaria, dificultad para respirar, pérdida del conocimiento, convulsiones, latidos cardiacos rápidos o irregulares, sangrado, alucinaciones, temblor incontrolable
Imipramina	Sarpullido grave, coloración amarillenta de la piel o los ojos, temblor incontrolable, espasmos musculares, dificultad para respirar y cambios en el deseo o capacidad sexual
Fenelzina	Pupilas dilatadas, coloración amarillenta de la piel o los ojos, temblor incontrolable, disminución de la capacidad sexual, mareos, somnolencia y constipación
Escitalopram	Náuseas, diarrea, estreñimiento, cambios en el deseo o capacidad sexual, somnolencia, mayor sudoración, mareos, acidez estomacal, dolor de estómago, cansancio excesivo, boca seca, disminución del apetito y pérdida de peso.
Desvenlafaxina	Estreñimiento, pérdida de apetito, boca sea, mareos, cansancio extremo, sueños inusuales, bostezos, sudoración, temblor incontrolable de una parte del cuerpo, dolor, ardor, entumecimiento u hormigueo, pupilas dilatadas, cambios en el deseo o capacidad sexual y dificultad para orinar.

Estos efectos se presentan con una frecuencia de 35-70% dependiendo del fármaco y de la dosis, así como también del paciente.

9.8.1 Mecanismo de acción Imipramina

La imipramina es un medicamento antidepresivo del tipo dibenzazepina, perteneciente a la familia de los antidepresivos tricíclicos. Se metaboliza a desipramina que se comercializa por separado y es utilizada para tratar la depresión (ANMAT, 2012).

Se absorbe de manera adecuada del tubo digestivo, se une con fuerza a las proteínas del plasma y se distribuye con rapidez. Las concentraciones pico se alcanzan 8 a 12 h después de su administración, y la vida media es de 10 a 20 h (Rodríguez, 2015).

Aumenta la disponibilidad de noradrenalina y de serotonina en las sinapsis adrenérgicas y serotoninérgicas, respectivamente, como resultado de una acción inhibitoria del mecanismo de recaptura, principal proceso de inactivación fisiológica de estos neurotransmisores a nivel de la membrana de la terminal sináptica. En

consecuencia, activa los procesos noradrenérgicos y serotoninérgicos centrales, supuestamente deficientes en la depresión (**Figura 2**). También tiene propiedades anticolinérgicas centrales y periféricas de tipo atropínico. Se supone que esta acción central es útil en el tratamiento de la depresión y que los efectos anticolinérgicos periféricos se derivan de bloqueo de la actividad parasimpática centrífuga. En el sujeto normal provoca somnolencia, aturdimiento, sedación, ligera hipotensión, signos atropinoides (resequedad bucal, visión borrosa, palpitaciones y retención urinaria) (Rodríguez, 2015).

Los fármacos tricíclicos no inhiben la monoaminooxidasa ni afectan la recaptación de dopamina. Debido a su afinidad hacia los receptores H1 de histamina, los antidepresivos tricíclicos producen una mayor o menor sedación, siendo moderada en el caso de la imipramina. Igualmente, pueden reducir el umbral convulsivo (ANMAT, 2012).

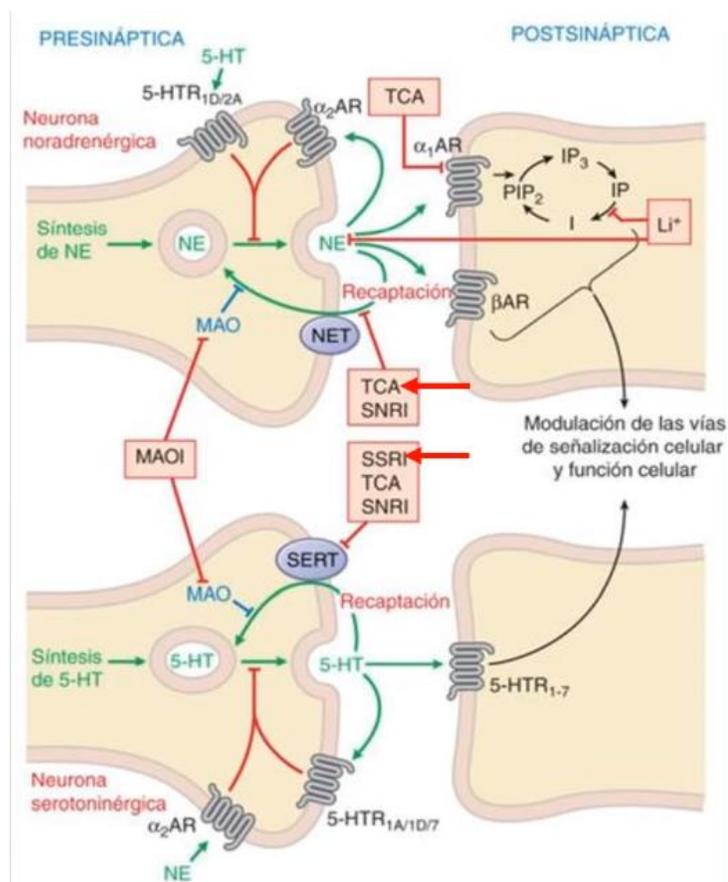


Figura 2. Mecanismo de acción imipramina.
(Imagen tomada de: Hernández, 2021)

2.2 Ansiedad

La ansiedad es una parte de la existencia humana, todas las personas sienten un grado moderado de la misma, siendo ésta una respuesta adaptativa. Este trastorno también se denomina trastorno de angustia; resaltando, entre otras características, la presencia de crisis de angustia recidivantes e inesperadas (American Psychiatric Association, 1994); dificultando la distinción entre ambos conceptos. En general, el término ansiedad alude a la combinación de distintas manifestaciones físicas y mentales que no son atribuibles a peligros reales, sino que se manifiestan ya sea en forma de crisis o bien como un estado persistente y difuso, pudiendo llegar al pánico; no obstante, pueden estar presentes otras características neuróticas tales como síntomas obsesivos o histéricos que no dominan el cuadro clínico. Si bien la ansiedad se destaca por su cercanía al miedo, se diferencia de éste en que, mientras el miedo es una perturbación cuya presencia se manifiesta ante estímulos presentes, la ansiedad se relaciona con la anticipación de peligros futuros, indefinibles e imprevisibles (SAMHSA, 2023).

La ansiedad se presenta mediante estímulos de amenaza, de tal manera que el conjunto de respuesta conductuales-emocionales se da cuando existe un estímulo auditivo, olfatorio, somatosensorial y visual. Esta información se integra al sistema nervioso central (SNC) específicamente a las siguientes estructuras anatómicas la amígdala, el hipotálamo y el hipocampo. El sistema GABAérgico tiene participación a través del complejo receptor-ionóforo del cloruro (GABA_A), el cual está involucrado en el control de la coordinación motora, aprendizaje, memoria, procesos de pánico, epileptogénesis y ansiedad. La expresión de la ansiedad en la amígdala está mediada por la regulación de diferentes sistemas de neurotransmisores y moduladores que son capaces de actuar sobre esta zona cerebral para ejercer efectos ansiolíticos (Kaufman *et al.*, 2005).

2.2.1 Clasificación

Angustia sin agorafobia: crisis de angustia recurrentes e inesperadas que causan preocupación permanente al paciente.

Angustia con agorafobia: crisis de angustia, miedo y ansiedad de muy alta intensidad denominado agorafobia, donde se presenta desesperación de estar en lugares y en situaciones vulnerables, es especial en situaciones donde no se podría disponer de ayuda.

Agorafobia sin historia de trastorno de angustia: se presenta al encontrarse en lugares o situaciones donde escapar puede ser difícil o embarazoso, pero sin la presencia de crisis de angustia.

Fobia específica: ansiedad como respuesta a la exposición a situaciones u objetos específicos temidos, que conllevan a comportamiento de evitación.

Fobia social: ansiedad como respuesta a situaciones sociales o actuaciones en público, que conllevan a comportamiento de evitación.

Obsesivo compulsivo: obsesiones que causan ansiedad, malestar y compulsiones cuyo propósito es neutralizar dicha ansiedad.

Estrés postraumático: ansiedad ante la reexperimentación de eventos traumáticos y comportamiento de evitación hacia estímulos relacionados con el trauma.

Estrés agudo: ansiedad y malestar que aparecen inmediatamente después a un acontecimiento traumático.

Ansiedad generalizada: ansiedad y preocupación de carácter excesivo y persistente durante al menos seis meses (Pichot, 1998).

La fisiopatología de los trastornos por ansiedad se puede presentar por varios factores dentro del ciclo de vida del estado de ánimo como síntomas característicos, dentro de estos síntomas están:

- Tensión motora: temblor, tensión o dolor muscular, inquietud y fatigabilidad excesiva.
- Hiperactividad vegetativa: sensación de ahogo, taquicardia, manos frías o húmedas, boca seca, mareo, escalofrío, micción frecuente y sensación de tener un "nudo en la garganta".
- Hipervigilancia: sentirse atrapado, exageración en la respuesta de alarma, dificultad para concentrarse, insomnio e irritabilidad (Pichot, 1998).

2.2.2 Prevalencia

De acuerdo con la página de la Coordinación de Comunicación Social del Senado de la República, boletín 579, en México la ansiedad es uno de los trastornos mentales más comunes, se estima que alrededor del 14-15% de los individuos presentan al menos un tipo de trastorno de ansiedad, este porcentaje puede ampliarse hasta 18% en la población más joven, que va desde etapas infantiles hasta adolescentes.

En los estudios realizados se han logrado señalar algunas de los factores que influyen a que las mujeres padezcan 4.5 veces más ansiedad que los hombres (esto calculado por medio de las ocurrencias a lo largo de la vida), entre ellos se encuentran; Los estatus o rol social al que las mujeres son ligadas desde el momento de nacimiento, la dependencia emocional al que las mujeres pueden ser expuestas a través de los altos índices de violencia de género, los bajos ingresos económicos causados aún por una brecha salarial que se mantiene alrededor de un 18% (IMCP, 2020). Todo esto teniendo un mayor impacto por el hecho único de ser de sexo femenino y exponiendo a las mujeres a estrés social.

Al ser la ansiedad un trastorno presente en su mayoría en edades tempranas normalmente puede ser detectada desde los 5-35 años, siendo regular una edad de inicio de entre los 11-16 años, puede ocasionar afecciones en el desarrollo de los adolescentes que la padezcan, causando un aumento en el riesgo de consumo de

sustancias tóxicas o riesgo de desencadenar otros cuadros de fobias o enfermedades mentales con el transcurso del tiempo (Marín-Ramírez y Alonso, 2015).

2.2.3 Fisiopatología de la ansiedad

La ansiedad es un trastorno multifactorial, por lo que influyen factores biológicos, sociales y ambientales (**Figura 3**). Así mismo participan diversas estructuras cerebrales que conforman el sistema límbico, es ahí mismo donde se ejercen la mayoría de las acciones de los fármacos ansiolíticos. En términos conductuales, la ansiedad tiene dos características principales; la primera es un estado emocional provocado por un estímulo perturbador, el segundo es el estado de anticipación procedente del primer estímulo.

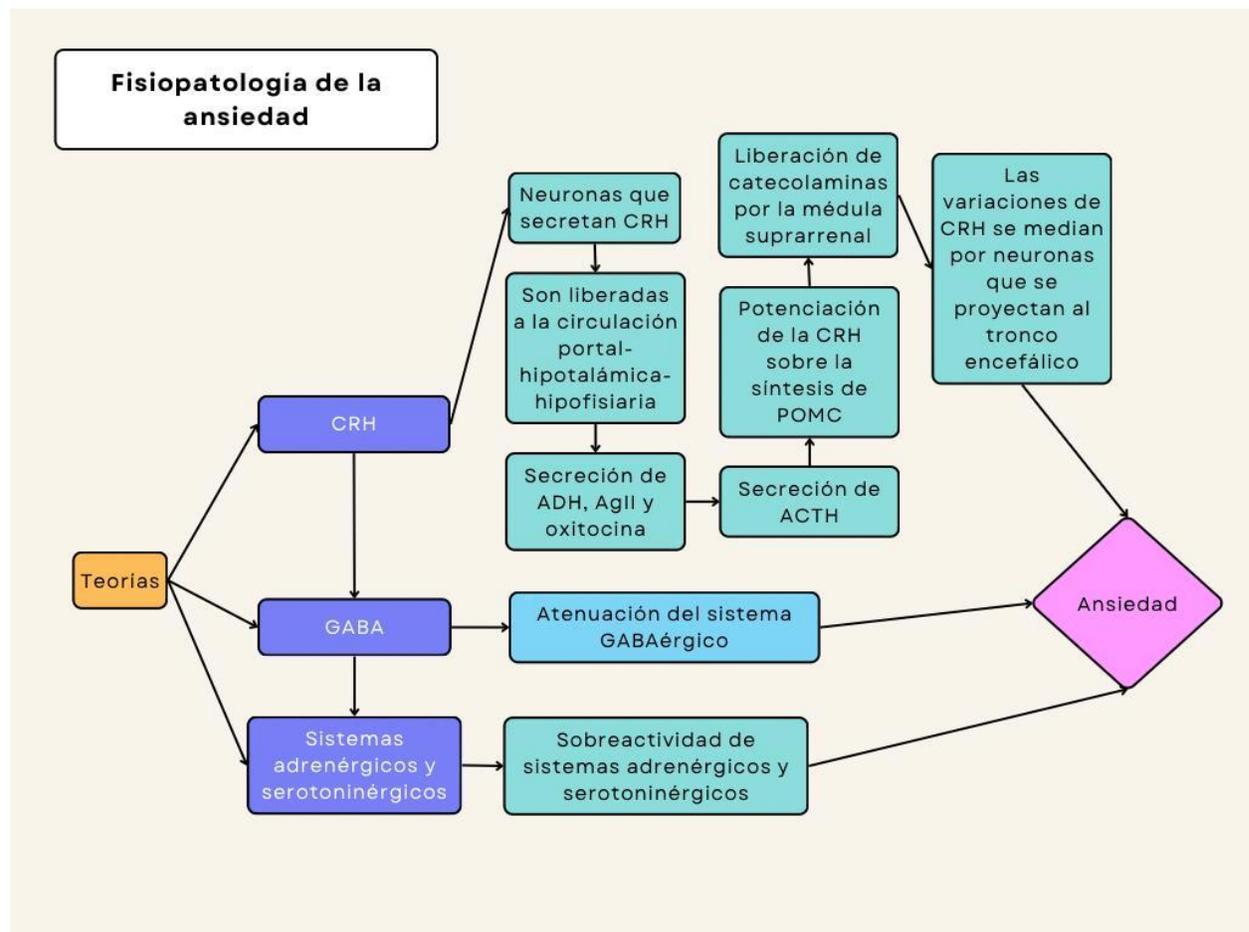


Figura 3. Fisiopatología de la ansiedad.

Se plantea que la presencia de la ansiedad se da a través de la sobreactividad de los sistemas adrenérgicos o serotoninérgicos en el sistema nervioso central, o a una leve atenuación del sistema GABAérgico, ya que esta es una consecuencia de alteraciones en el funcionamiento del receptor GABA_A, las cuales pueden resultar de cambios en la concentración de GABA o en el número de receptores, así como en la sensibilidad del receptor (Cedillo, 2017).

Por otro lado, la ansiedad se podría generar en el núcleo paraventricular del hipotálamo, donde se localizan las neuronas que secretan CRH y proyectan sus axones a la eminencia media, donde se almacenan hasta ser liberadas a la circulación portal-hipotalámica-hipofisaria, además estas neuronas secretan otras hormonas hipotalámicas ADH, AgII y oxitocina, las cuales son capaces de estimular igualmente la secreción de ACTH y potencian la acción de la CRH sobre la síntesis de proopiomelanocortina (POMC), así como la secreción de péptidos derivados de esta proteína (del Toro-Añel *et al.*, 2014).

Además de estimular la secreción hipofisaria de ACTH, la CRH aumenta el tono simpático y la liberación de catecolaminas por la médula suprarrenal. Estas variaciones de la CRH parecen estar mediadas por las neuronas del núcleo paraventricular, cuyos axones no se proyectan a la eminencia media sino al tronco encefálico, lo que puede explicar la gran variedad de reacciones psicológicas que aparecen ante situaciones estresantes, mediadas por el sistema nervioso autónomo (Qiu T *et al.*, 2023).

2.2.4 Tratamiento

De acuerdo con la Asociación Psicológica Americana (American Psychological Association, APA) la mayoría de los casos de trastornos de ansiedad pueden ser tratados por profesionales de la salud apropiadamente capacitados de una manera totalmente satisfactoria, los psicólogos usan la terapia cognitivo-conductual para ayudar a los pacientes a identificar y aprender a controlar los medios que contribuyen a su ansiedad por medio de técnicas de relajación profunda y la identificación de los síntomas.

En cuanto a la medicación, se utilizan fármacos ansiolíticos, estos son sustancias depresoras del sistema nervioso central (SNC), la mayoría de los ansiolíticos (incluidas las benzodiazepinas) actúan de manera selectiva sobre receptores de GABA_A, su acción ansiolítica está mediada por receptores de la subunidad α_2 del receptor GABA_A, potenciando así la respuesta a GABA, generando la apertura de los canales de cloruro activados por este neurotransmisor hiperpolarizando la célula neuronal, siendo así menos susceptible a estímulos activadores produciendo un estado de inhibición neuronal (Benedí y Gómez, 2007).

Múltiples tratamientos a base de plantas medicinales son utilizados para tratar este padecimiento, como por ejemplo el tratamiento a base de la planta *Aconitum napellus*, la cual tiene un gran efecto sobre los síntomas de la ansiedad y pánico con y sin agorafobia (Bali *et al.*, 2022).

2.2.4.1 Efectos secundarios indeseables.

Tabla 2. Ansiolíticos actuales utilizados para tratamiento de personas con trastornos de ansiedad y sus efectos secundarios indeseables (BNM, 2022).

Medicamentos	Efectos secundarios indeseables
Alprazolam	Dificultad para respirar, convulsiones, urticaria intensa, ictericia en la piel u ojos, confusión, somnolencia, aturdimiento, dolor de cabeza, cansancio, mareos, irritabilidad, cambios en el deseo o capacidad sexual, estreñimiento y dolor de articulaciones
Diazepam	Pérdida del control de los movimientos corporales, temblor incontrolable, respiración y ritmo cardíaco lento, mareos, debilidad muscular, dolor de cabeza, boca seca, confusión y cambios en el deseo o capacidad sexual
Bromazepam	Fatiga, debilidad muscular, disminución de la vigilancia, trastornos gastrointestinales, alteraciones de la libido, reacciones cutáneas, confusión, mareo, aumento del apetito y conducta inadecuada
Lormetazepam	Intranquilidad, agitación, irritabilidad, agresividad, delirios, ataques de ira, pesadillas, alucinaciones, psicosis, comportamiento inadecuado, discrasia sanguínea, hipotensión y amnesia

9.8.2 Mecanismo de acción Diazepam

Las benzodiazepinas actúan a nivel de las regiones límbicas, tálamo, hipotálamo del sistema nervioso central y puede producir todo tipo de depresión del SNC incluyendo la sedación y la hipnosis, así como la relajación del músculo esquelético, y una actividad anticonvulsiva. El GABA es un neurotransmisor inhibitorio que ejerce sus efectos en los subtipos de receptores específicos denominados GABA_A y GABA_B. El GABA_A (**Figura 4**) es el subtipo de receptor primario en el SNC y se cree que participa en las acciones de ansiolíticos y sedantes (ANMAT, 2013).

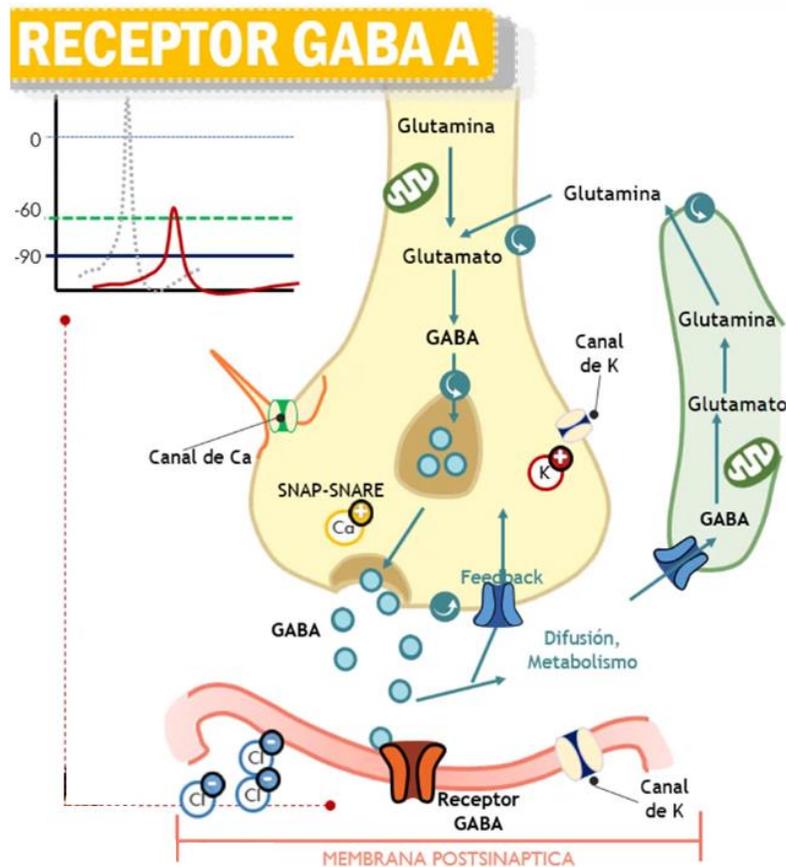


Figura 4. Receptor GABA_A y mecanismo de acción benzodiazepinas.
(Imagen tomada de: Hernández, 2021)

Sus efectos farmacológicos se inician 30 a 60 min después de administración oral; por vía intramuscular se inician en 15 min, y por vía intravenosa son casi inmediatos (5 min). En cuanto comienza la activación del receptor, GABA abre el canal de cloruro y se facilita la entrada de iones a través de la membrana, esto ocurre

únicamente si hay GABA, si no la benzodiazepina no deja entrar al cloruro por sí solo. Esto produce una hiperpolarización de la membrana postsináptica, inhibición de las descargas neuronales y, en consecuencia, se reduce la excitabilidad celular. También disminuye la excitabilidad de algunos grupos neuronales mediante acciones que no incluyen al GABA ni provocan alteraciones de la permeabilidad de la membrana al cloruro (Rodríguez, 2015).

Las benzodiazepinas se unen a las subunidades $\alpha 1$ y $\gamma 2$ (**Figura 5**), lo que, en última instancia, modulan los efectos de GABA. A diferencia de los barbitúricos que aumentan la respuesta de GABA mediante la prolongación del tiempo en el que los canales de cloruro están abiertos, benzodiazepinas aumentan los efectos de GABA mediante el aumento de la afinidad del GABA para el receptor de GABA. La unión de GABA al sitio abre el canal de cloruro lo que resulta en una membrana celular hiperpolarizada que impide aún más la excitación de la célula (ANMAT, 2013).

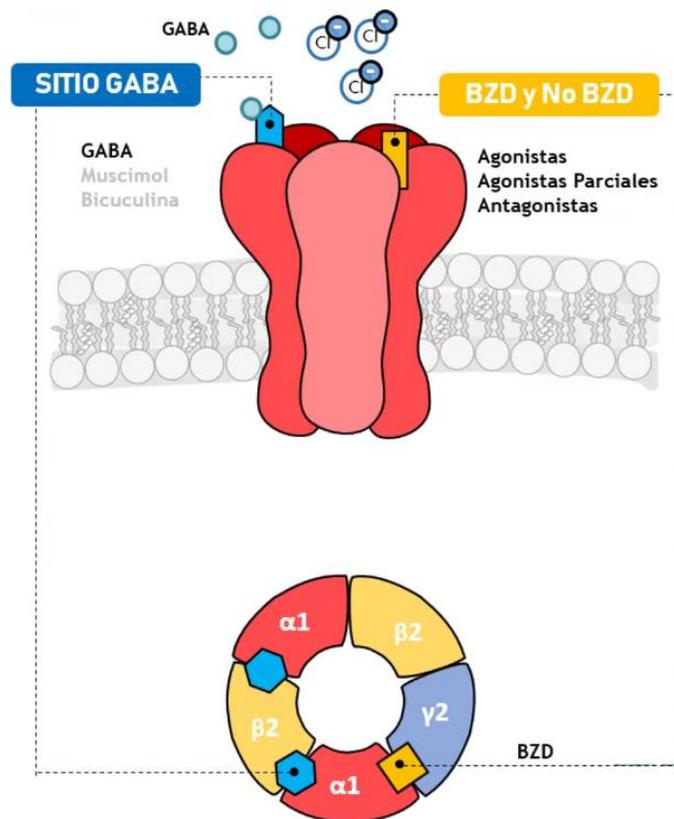


Figura 5. Sitio de unión específico de las benzodiazepinas en el receptor GABA_A.
(Imagen tomada de: Hernández, 2021)

La acción ansiolítica de las benzodiazepinas puede ser un resultado de su capacidad para bloquear la excitación cortical y límbica después de la estimulación de las vías reticulares mientras que las propiedades relajantes musculares están mediadas por la inhibición de las vías mono y polisinápticas. Las benzodiazepinas también pueden deprimir la función muscular y nerviosa motora directamente (Rodríguez, 2015).

2.3 Epilepsia

La epilepsia es un trastorno neurológico de gran relevancia en salud y nivel social en América Latina y el Caribe, su diagnóstico es esencialmente clínico y se puede realizar en la atención primaria; asimismo, la gran mayoría de las personas con esta condición pueden llevar una vida normal si reciben el tratamiento apropiado. Sin embargo, hay diversos factores que limitan y obstaculizan el tratamiento, entre ellos, el déficit de información, la estigmatización y la falta de acceso a los servicios de salud (Kestel *et al.*, 2013).

Es un trastorno crónico no transmisible del cerebro que afecta a personas de todas las edades. Aproximadamente, 50 millones de personas en el mundo viven con epilepsia, haciéndola una de las enfermedades neurológicas más comunes a nivel global. Alrededor del 80% de las personas con epilepsia viven en países de ingresos bajos y medios. La muerte prematura es hasta tres veces mayor que en la población general; las tasas más altas encontradas pertenecen a países de ingresos bajos y medios, y en el área rural versus el área urbana (Dua y Short, 2013).

Según el National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS, 2023) la epilepsia comprende dos o más convulsiones, y puede ser un trastorno primario cuando aparece en forma espontánea, casi siempre en la infancia o si se cuenta con una predisposición genética, o un trastorno secundario cuando es resultado de una hipoxemia, lesión cefálica, infección, evento cerebrovascular o tumor en alguna parte del sistema nervioso central. Cuando la epilepsia da inicio en la vida adulta casi siempre es por alguno de estos incidentes (Rodríguez *et al.*, 2019).

2.3.1 Clasificación

Una convulsión es una descarga súbita y descontrolada de las neuronas encefálicas que produce cambios en la actividad del encéfalo. Estas se producen cuando ciertas neuronas encefálicas se encuentran en estado hiperexcitable o fácil de despolarizar, como resultado las neuronas se agrupan conformando un foco epileptógeno, estando siempre cerca del potencial umbral necesario para responder a estímulos de una intensidad (NINDS, 2023).

Una vez que el foco epileptógeno empieza a disparar potenciales de acción, la corriente resultante puede diseminarse a las células vecinas, induciendo cargas que pueden extenderse a ambos lados del cerebro y por áreas corticales, subcorticales y del tallo encefálico (NCCDPHP, 2018).

- ❖ **generalizadas:** Es un período de actividad eléctrica descontrolada que se da en el cerebro, la cual puede deberse a una condición médica que provoca convulsiones recurrentes (epilepsia). Son generalizadas cuando la convulsión inicia en forma difusa por toda la corteza cerebral e incluye ambos lados de la corteza. Estas convulsiones llegan afectar a personas de cualquier edad, pero son más comunes en los niños y adultos jóvenes, por otra parte, los síntomas más comunes son la pérdida de conciencia, con pérdida de memoria y confusión después de la convulsión. Las causas pueden ser fiebre alta (en niños), abstinencia alcohólica, infecciones del sistema nervioso y niveles muy bajos de azúcar en la sangre, por ejemplo, en las personas diabéticas o bien pueden ser ideopáticas (por razones desconocidas) o secundarias a traumatismos, infecciones, tumores o hemorragias cerebrales (NCCDPHP, 2018).

Las convulsiones generalizadas afectan toda la superficie encefálica y se catalogan en **tonicoclónicas** (caracterizadas por el inicio súbito de contracciones rígidas e intensas de los músculos de brazos y piernas: **tónicas**, seguidas de contracciones y relajaciones rítmicas de los músculos: **clónicas**), sólo tónicas, clónicas o atónicas.

- ❖ **Focales o parciales:** Si la convulsión inicia en un foco discreto y se limita a un lado del encéfalo, estamos hablando de una convulsión parcial. Las convulsiones parciales se clasifican en parciales simples; durante las cuales no se afecta la consciencia, y las parciales complejas; que afectan el nivel de consciencia. Un tercer tipo de convulsión parcial es la convulsión de generalización secundaria, esta comienza como un episodio parcial simple y evoluciona hasta afectar la consciencia. Las convulsiones parciales pueden ser idiopáticas o secundarias a algún tipo de daño encefálico.

2.3.2 Prevalencia

En México se estima una prevalencia de entre 10.8 a 20 casos de epilepsia por cada mil habitantes, lo que arroja cifras de padecimiento de hasta 5 personas por cada 250 habitantes (IMSS, 2020). Aunque se cree la cifra puede ser más amplia, ya que la información sobre la prevalencia de la epilepsia en México está disponible en la página web del Instituto Mexicano del Seguro Social, en el cual se marca también la distribución de la atención médica de este padecimiento, la razón por la cual esta cifra podría ser realmente mayor, es porque en México no todas las personas cuentan con Seguro Social, pues sólo 45% de la población cuenta con este servicio de salud (INEGI, 2020), lo cual nos podría indicar, que el censo no abarca la población general del país.

2.3.3 Fisiopatología de la epilepsia

Existen diferentes mecanismos que pueden generar una descarga eléctrica, estas son: la disminución de los mecanismos GABAérgicos, el aumento de los mecanismos excitadores mediados por ácido aspártico y glutámico y una alteración de la conducción transmembranal de los iones sodio y calcio (**Figura 6**). Los neurotransmisores que participan en la generación de convulsiones pueden ser excitatorios (abren canales de sodio y calcio, como el glutamato y la acetilcolina) y los inhibitorios (abren los canales de potasio y de cloruro como el GABA).

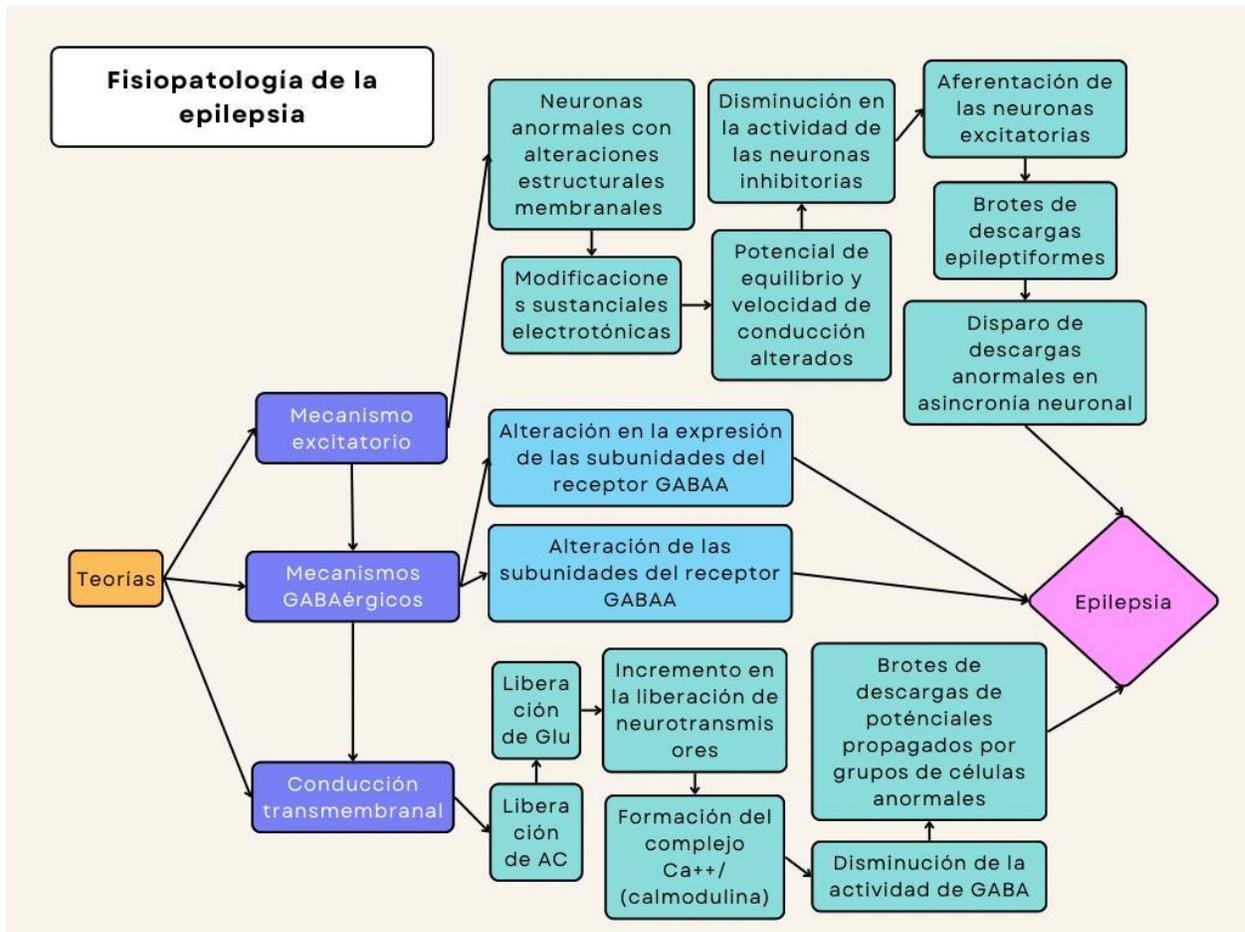


Figura 6. Fisiopatología de la epilepsia.

Disminución de los mecanismos GABAérgicos: El receptor GABA_A es permeable al ion cloruro, por lo cual provoca una hiperpolarización de la membrana neuronal que inhibe la conducción del impulso nervioso. En estudios se ha visto alterada la expresión de las subunidades que conforman los receptores GABA en pacientes con epilepsia del lóbulo temporal, esto demuestra que las crisis epilépticas pueden tener relación con mutaciones en las subunidades del receptor GABA_A (Rodríguez *et al.*, 2019).

En cuanto al receptor GABA_B, es metabotrópico y está localizado principalmente en la médula espinal. Los receptores presinápticos inducen la disminución de la liberación de neurotransmisores debido a la activación de los segundos mensajeros que inhiben la entrada de calcio (Rodríguez *et al.*, 2019).

Alteración de la conducción transmembranal: Las neuronas anormales que forman parte del foco de epileptogénesis muestran alteraciones estructurales en su membrana que condicionan modificaciones sustanciales en sus características electrotónicas y, por ende, en su potencial de equilibrio y velocidad de conducción. Los procesos moleculares que convergen con la aparición de esta serie de alteraciones dieléctricas, dependen fundamentalmente de la actividad de receptores tanto ionotrópicos como metabotrópicos, los que no solo condicionan severas modificaciones en los flujos iónicos, sino en la transmisión sináptica y en la comunicación intracelular (RFC, 2016).

A lo largo del fenómeno disminuye la actividad de las neuronas inhibitorias aferentes al foco de epileptogénesis y se incrementa la aferentación de las neuronas excitatorias, desencadenando brotes de descargas epileptiformes breves, autolimitadas y de alta frecuencia. Estos brotes de descargas regulares y rítmicas de alta frecuencia se autolimitan cuando los potenciales propagados que se generan encuentran a la neurona postsináptica en estado de hiperpolarización; período que al finalizar facilita el disparo de descargas anormales, que en asincronía con el ritmo de descarga de otros conglomerados neuronales se diseminan rápidamente por el encéfalo. Así las crisis no principian abruptamente, sino que se desarrollan a partir de una serie de cambios paulatinos que en un momento dado sufre la actividad eléctrica en el SNC (RFC, 2016).

Aumento del mecanismo excitatorio: No obstante que la liberación presináptica de acetilcolina puede ser el estímulo desencadenante del fenómeno dieléctrico, es el ácido glutámico (Glu) el que refuerza y sostiene el proceso. Cuando la interneurona facilitatoria libera Glu y este actúa sobre un receptor específico, se activa una proteincinasa que al promover un influjo sostenido de Ca^{++} , da lugar a la formación del complejo Ca^{++} /calmodulina, el que estimula a su vez a otros receptores facilitatorios que además de incrementar la liberación de más neurotransmisores al medio, produce alteraciones en la función mitocondrial que repercuten en la supervivencia de la célula. Durante el proceso de epileptogénesis, disminuye también la actividad del ácido γ -

aminobutírico (GABA), el que, como neurotransmisor, inhibe la actividad de las neuronas postsinápticas en condiciones homeostáticas (Komulainen *et al.*, 2019).

Del foco de epileptogenesis emergen constantemente breves brotes de descargas de potenciales propagados, que son disparados de manera rítmica y sincrónica, por grupos de células anormales que toman la función de marcapaso. Estos trenes de descarga pueden en un momento dado potenciar sus estímulos, los que, al hacer crecer su frente de onda, despolarizan áreas circunvecinas conformadas por estructuras neuronales anatómica y funcionalmente normales, que se prestan por sus características dieléctricas a la conducción y propagación del estímulo anormal (García y Simón, 2016).

2.3.4 Tratamiento

Históricamente, los fármacos antiepilépticos pueden ser clasificados en tres generaciones: la primera generación comprende aquellos comercializados entre 1857 y 1958 e incluye al bromuro de potasio, el fenobarbital y varias moléculas derivadas de la estructura de los barbitúricos, tales como la fenitoína, la primidona, la trimetadiona y la etosuximida. La segunda generación incluye fármacos como la carbamazepina, el valproato y los benzodiazepínicos, introducidos entre 1960 y 1975 y que son, químicamente diferentes a los barbitúricos. Justo después de 1980, pasaron a ser comercializados compuestos de tercera generación, constituidos por fármacos descubiertos por el “desarrollo racional”, como la progabida (agonista GABAérgico directo), la gabapentina, la vigabatrina y la tiagabina (inhibidor de la captación de GABA), así como por otros que fueron descubiertos de forma accidental, como la lamotrigina (bloqueo de canales Na^+) y el topiramato (Bloqueo de canales Na^+ Potenciación GABA y Antagonismo glutamato). Actualmente se están desarrollando antiepilépticos de cuarta generación (Targas, 2014).

Otras opciones de tratamientos para la epilepsia incluyen plantas medicinales como la especie *Coriandrum sativum*, esta especie es altamente conocida a nivel mundial por

su importancia culinaria, de esta manera en estudios realizados a la hoja de esta planta se le reconoció un efecto anticonvulsivante al ingerirlo en infusión (Manville y Abbott, 2019).

2.3.4.1 Efectos secundarios indeseables

Tabla 3. Anticonvulsivantes actuales utilizados para tratamiento de personas con trastornos epilépticos y sus efectos secundarios indeseables (BNM, 2022).

Medicamentos	Efectos secundarios indeseables
Lamotrigina	Convulsiones, inflamación, sangrado, fiebre, sarpullido, ictericia, micción con sangre, dolor de pecho, debilidad muscular, acidez estomacal, somnolencia y vómitos
Fenitoína	Ampollas, sangrado, ritmo cardiaco irregular, movimientos oculares y corporales incontrolables, pérdida de coordinación, dolor o curvatura del pene
Oxcarbazepina	Descamación, sarpullido, desprendimiento de la piel, llagas en la boca o alrededor de los ojos, micción con sangre, inflamación vaginal, y movimientos oculares incontrolables

9.8.3 Mecanismo de acción Pentilentetrazol (Metrazol)

El pentilentetrazol (PTZ) es un antagonista de los receptores GABA_A (López, 2001), es un compuesto químico que induce convulsiones, disminuyendo el tiempo de recuperación de las neuronas, dando lugar a descargas eléctricas rápidas y repetitivas, que pueden modificar el ritmo respiratorio y afectar el cerebro por falta de oxígeno. Todo esto se genera mediante un mecanismo estimulante del eje cerebro-medular, que genera sacudidas mioclónicas y subsecuentemente crisis tónico-clónicas generalizadas (Acuña y Cusi, 2013).

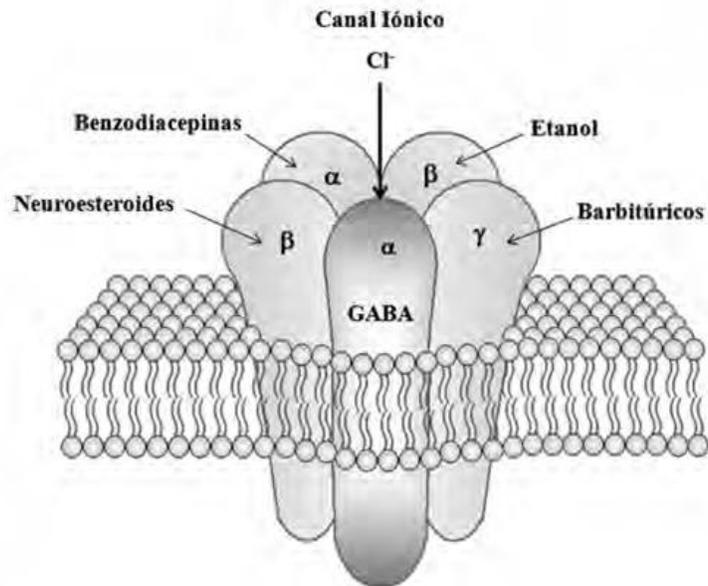


Figura 7. Sitio de unión específico del metrazol en el receptor GABA_A.
(Imagen tomada de: Ramos, 2021)

A nivel molecular se ha demostrado que cierra los canales celulares, actuando en el sitio de unión al receptor de picrotoxina. En pequeñas concentraciones produce despolarizaciones paroxísticas mientras altera la conductancia de los iones de cloruro (**Figura 7**), lo cual produce descargas en el hipocampo (Acuña y Cusi, 2013).

2.4 Insomnio

El insomnio es el padecimiento del dormir más prevalente, pues uno de cada tres adultos lo presenta en el transcurso de un año, y la mitad de ellos lo experimentan como un problema importante. Para poder calificar como situacional al insomnio, el episodio debe representar un cambio significativo de lo habitual y estar relacionado con un estresor identificado (Valencia *et al*, 2002).

Como molestias coexistentes son frecuentes la irritabilidad, la ansiedad y la labilidad afectiva, pues usualmente va de la mano con un deterioro de las actividades sociales, laborales o educacionales. En casos graves, se puede presentar como reacciones depresivas o brotes psicóticos (Rivero y Jiménez, 2020).

Todas las enfermedades psiquiátricas pueden ir acompañadas de insomnio; la intensidad de este irá de la mano con la del trastorno psiquiátrico primario. Dos síndromes destacan: la ansiedad, que generalmente manifiesta dificultades para conciliar el sueño, y la depresión, que se caracteriza por insomnio terminal.

Muchos agentes que son usados como tratamiento para la ansiedad, depresión y epilepsia, pueden deprimir la función del sistema nervioso central y producir calma o somnolencia (sedación) (AASM, 2014).

2.4.1 Clasificación

Clínicamente, el insomnio se clasifica tomando en cuenta diferentes criterios.

1. Forma de presentación:

- a) Insomnio inicial, si a la persona le cuesta trabajo conciliar el sueño.
- b) Insomnio medio, si el paciente sufre despertares a lo largo de la noche.
- c) Insomnio terminal, si se despierta antes de lo esperado por la madrugada.

2. Duración

- a) Insomnio transitorio, si su duración es únicamente de unos cuantos días.
- b) Insomnio de corta duración, si persiste de una a cuatro semanas.
- c) Insomnio de larga duración, si está presente por un mes o más.

En todo caso, aunque el insomnio es un padecimiento, no es una enfermedad, pues más bien es un síntoma, existe una Clasificación Internacional de Trastornos del Dormir donde encontramos 12 apartados de causas descritas del insomnio catalogadas de la siguiente manera:

- 1. Insomnio situacional.
- 2. Insomnio por enfermedad psiquiátrica.
- 3. Insomnio psicofisiológico.
- 4. Trastorno por movimiento periódico de extremidades, síndrome de piernas inquietas.
- 5. Trastornos respiratorios durante el dormir.
- 6. Insomnio por sustancias.
- 7. Higiene deficiente de sueño.
- 8. Insomnio ambiental.

9. Insomnio por causas médicas (dolor, disnea).
10. Trastornos del ciclo circadiano.
11. Percepción inadecuada del dormir.
12. Insomnio idiopático.

Evidentemente ante todos estos criterios de clasificación, se remarca que la forma adecuada de tratar el insomnio es orientándose a la causa, es decir, a tratamientos causales y no sintomáticos (Sánchez-Cárdenas *et al.*, 2016).

2.4.2 Prevalencia

En México entre el 30 y el 40% de la población ha presentado alguna vez en su vida insomnio y del 9 al 15% de la población habrá desarrollado insomnio crónico. Siendo el insomnio, el malestar más común, sobrepasando la diabetes, enfermedades cardíacas e incluso el cáncer. Entre los factores que generan mayor prevalencia se encuentran: el género femenino, patologías mentales, el abuso de sustancias y la edad avanzada. Ya que la prevalencia más alta es en mayores de 65 años (Sánchez-Cárdenas *et al.*, 2016).

2.4.3 Fisiopatología del insomnio

El insomnio no puede ser atribuido a una sola causa y tampoco disponemos de un tratamiento etiológico, por lo que es necesario un abordaje multifactorial y muchas veces individualizado para cada paciente (Álamo *et al.*, 2016).

El **insomnio primario** consiste en la dificultad para iniciar y mantener el sueño, o la sensación de no haber dormido un sueño reparador, este puede ser detonado por factores externos o insuficiencias en la producción de melatonina, así como niveles altos de cortisol, orexina o norepinefrina (Ringdahl *et al.*, 2004).

Trastorno del ritmo circadiano. El núcleo supraquiasmático, situado en el hipotálamo, es el encargado de adaptar el ritmo circadiano del individuo a las 24 horas

del día, a modo de reloj biológico endógeno. Esta adaptación se realiza a través de la retina que tiene conexiones neuronales directas con el núcleo supraquiasmático. Por esta vía retino-hipotalámica es por donde se transmiten los cambios en la estimulación lumínica hacia el reloj hipotalámico (Contreras y Pérez, 2021).

La mioclonía nocturna, es una entidad poco conocida, aunque frecuente. Consiste en sacudidas de los miembros, sobre todo de las piernas, generalmente bilaterales y repetidas, rítmicas, breves y de baja amplitud, que aparecen al inicio del sueño. Pueden en ocasiones llegar a durar hasta 2 horas y provocan sueño fragmentado, despertares frecuentes, sensación de malestar y somnolencia diurna. Se da con más frecuencia en varones mayores de 65 años. La etiología es desconocida, aunque se han implicado en ella alteraciones del metabolismo del hierro a nivel del SNC y del sistema dopaminérgico, por la respuesta favorable a fármacos dopaminérgicos (Sarrais y de Castro, 2007).

El **síndrome de piernas inquietas** consiste en una necesidad imperiosa de mover las piernas debido a disestesias o molestias de las mismas. Aumentan durante el reposo, mejoran con el movimiento, no guardan relación con la posición corporal y empeoran por la tarde o noche. Se asocia con frecuencia a la narcolepsia, al síndrome de apneas del sueño y a algunas parasomnias. Desde el punto de vista electroencefalográfico en estos pacientes aumenta la latencia del sueño (Hornyak *et al.*, 2006).

2.4.4 Tratamiento

Para el tratamiento del insomnio se pueden usar los hipnóticos de tipo benzodiazepínico de manera ocasional o por periodos cortos. Un medicamento hipnótico produce somnolencia y facilita la aparición y el mantenimiento de un estado de sueño que se asemeja al sueño natural en sus características

electroencefalográficas y desde el cual el receptor puede despertarse fácilmente, a diferencia de un medicamento sedante; que disminuye la actividad, modera la excitación y calma al receptor.

Las benzodiazepinas actúan facilitando la neurotransmisión GABAérgica, facilitando la entrada de cloro a la célula. El efecto hipnótico se obtiene cuando el nivel de la benzodiazepina es mayor que la concentración efectiva mínima.

De manera alternativa a los tratamientos de síntesis se han utilizado algunos medicamentos a base de plantas medicinales, tal es el caso de la *Valeriana officinalis* que es probablemente la especie más estudiada por sus efectos sobre diferentes tipos de alteraciones nerviosas, especialmente la somnolencia. Diferentes estudios clínicos han demostrado el efecto de la valeriana tanto en la estructura del sueño como en la percepción del sueño en pacientes con insomnio (Borrás *et al.*, 2021)

2.4.4.1 Efectos secundarios indeseables

A lo largo del tiempo se ha registrado que muchos fármacos con blanco en el sistema nervioso presentan múltiples efectos secundarios no deseados (**Tabla 4**), dentro de ellos el efecto sedante es un efecto secundario de muchos medicamentos que no son depresores generales del SNC (p. Ej., los fármacos Antihistamínicos y agentes antipsicóticos) (BNM, 2022).

Tabla 4. Sedantes-hipnóticos actuales utilizados para tratamiento de personas con trastornos de insomnio y sus efectos secundarios indeseables (BNM, 2022).

Medicamentos	Efectos secundarios indeseables
Midazolam	Dificultad para respirar, picazón, sarpullido, urticaria, movimientos oculares incontrolables, convulsiones, agresión, temblor incontrolable, dolor, somnolencia, vómitos, hipo y tos.
Pentobarbital	Confusión, alucinaciones, respiración débil, paso cardiaco lento, sensación de desmayo, problemas de memoria, pesadillas, agresión, vómito, dolor de cabeza y pérdida de equilibrio.
Eszopiclona	Vómitos, acidez, sabor desagradable, boca seca, sueños extraños, disminución del deseo sexual, períodos menstruales dolorosos, agrandamiento de los senos en el hombre, inflamación de los ojos, la cara, los labios, la lengua, la garganta, las manos, los pies, los tobillos o la parte inferior de las piernas, dificultad para respirar o tragar, sensación de que se le cierra la garganta.

9.8.4 Mecanismo de acción Pentobarbital

El Pentobarbital sódico se une a la subunidad $\gamma 2$ (**Figura 8**), pertenece al grupo de los barbitúricos, compuestos de acción hipnótica muy destacada. Su acción fundamental es la depresión no selectiva del sistema nervioso central, parálisis descendente, y su acción parece estar relacionada con la capacidad de aumentar o mimetizar la acción inhibitoria sináptica del ácido gamma aminobutírico (GABA), que según la dosis puede ir desde la sedación hasta la anestesia general o el coma, y aún la muerte por parálisis del centro respiratorio (AMAH, 2023).

Como sedante-hipnótico el pentobarbital deprime la corteza sensorial, disminuye la actividad motora, altera la función cerebral y produce somnolencia, sedación e hipnosis. La acción se ejercería en el nivel del tálamo, inhibiendo la conducción ascendente de los impulsos nerviosos hacia el cerebro. Como un fármaco anticonvulsivo, inhibe la transmisión monosináptica y polisináptica en el SNC, y aumenta el umbral de estimulación eléctrica en la corteza motora (VAM, 2018).

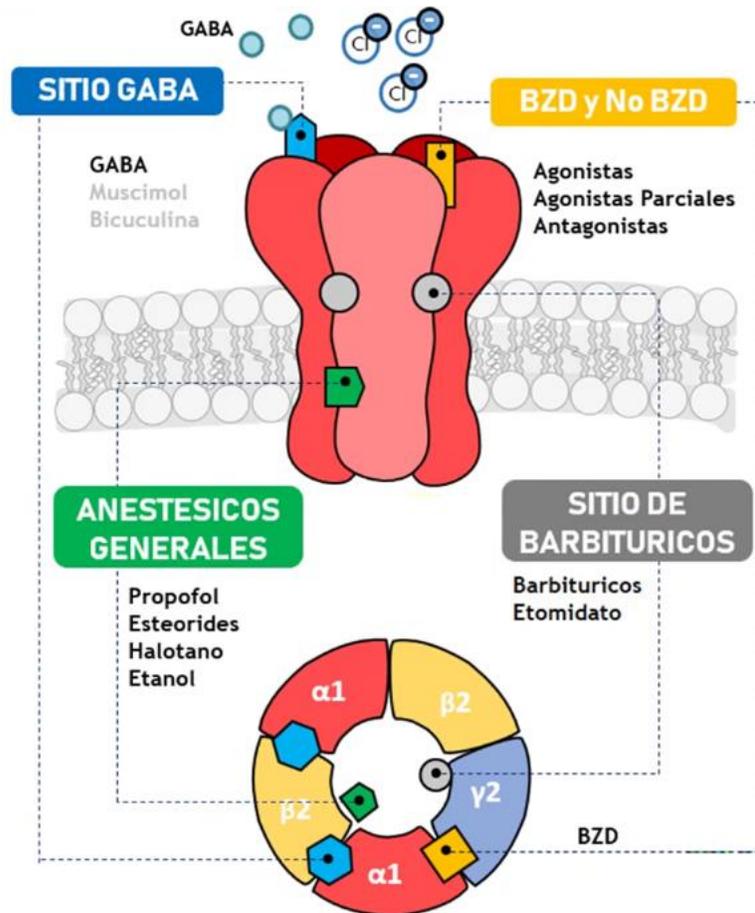


Figura 8. Sitio de unión específico de los barbitúricos en el receptor GABA_A.
(Imagen tomada de: Hernández, 2021)

3. Modelos Farmacológicos

Dentro de la rama de la farmacología experimental se han desarrollado amplios modelos farmacológicos, los cuales intentan representar la fisiopatología de diferentes trastornos nerviosos. A continuación, se describirán algunos modelos que se emplearon en el presente proyecto.

3.1 Modelo de nado forzado (NF)

El modelo de nado forzado (NF) es una metodología que utilizó Porsolt en 1977 para determinar las acciones antidepresivas de sustancias. Este modelo es

probablemente el más empleado en la búsqueda del potencial antidepresivo de un compuesto nuevo (McArthur y Borsini, 2006) y de extracto y fracciones de plantas medicinales (Zhang, 2004). El parámetro más importante de esta prueba es el tiempo de inmovilidad de los animales cuando se les somete a una prueba de natación. Se ha demostrado que los fármacos antidepresivos tienen la capacidad de disminuir la duración del periodo de inmovilidad. Por lo cual, el modelo de nado forzado es una prueba farmacológica experimentalmente válida en búsqueda de sustancias de origen vegetal que pudieran tener eficacia antidepresiva en la clínica. Este modelo es sensible a los fármacos tricíclicos, inhibidores de la enzima monoamino oxidasa (IMAO), inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS), cada uno de los cuales muestran una respuesta variable.

3.2 Modelo de laberinto elevado en forma de cruz (LEC)

El laberinto elevado en forma de cruz (LEC) es utilizado en la búsqueda de tratamientos contra la ansiedad (Zhang, 2004), este modelo permite medir la tasa de aproximación contra la evitación, al presentar una selección entre brazos cerrados del laberinto (un ambiente que es seguro) y brazos abiertos (un espacio que parece novedoso, pero con un alto nivel de riesgo) (File *et al.*, 2000). En 1987 Lister hizo el experimento usando ratones suizos, y encontró que este modelo es también útil para evaluar la disminución de la ansiedad y la generación de ésta (Lister, 1987). Aunque los modelos animales no representan todos los aspectos de la ansiedad de los humanos, se vinculan con ciertos tipos de ansiedad y constituyen una herramienta para la comprensión del probable mecanismo de acción ansiolítica de diferentes sustancias (Bourin, 2015).

3.3 Modelo de campo abierto (CA)

El modelo de campo abierto (CA) fue descrito para el estudio de la emocionalidad en ratas (Archer, 1973), el procedimiento consiste en colocar al roedor, a un medioambiente desconocido en donde la posibilidad de escape se previene por rodear el campo con paredes (Walsh y Cummins, 1975). El CA es ahora uno de los procedimientos más populares para investigar la conducta animal, sobre todo la

valoración de la actividad motora y determinar si un fármaco presenta un efecto sedante o estimulante del SNC (Prut y Belzung, 2003).

3.4 Modelo de potenciación del estado hipnótico del pentobarbital

Los barbitúricos fueron una vez empleados ampliamente como fármacos sedantes-hipnóticos deprimen reversiblemente todos los tejidos excitables. El sistema nervioso central es altamente sensible y aun cuando los barbitúricos son dados en concentraciones anestésicas, los efectos directos sobre los tejidos excitables periféricos son débiles. Sin embargo, se presenta un déficit grave en las funciones cardiovasculares y otras funciones periféricas (Mihic y Harris, 2011). En la actualidad el uso de los barbitúricos se ha restringido al área veterinaria, para el tratamiento de los humanos estos han sido remplazados por las benzodiazepinas que son mucho más seguras (Morales-Pérez *et al.*, 2019).

3.5 Modelo de convulsiones inducidas con pentilentetrazol

El pentilentetrazol es un fármaco antagonista del receptor GABA_A que bloquea el canal iónico de cloruro, lo cual estimula el sistema nervioso central desencadenando en el sujeto experimental diferentes tipos de convulsiones. Este fármaco es utilizado ampliamente como agente convulsivante y se usa para provocar convulsiones en los protocolos de evaluación de diferentes productos naturales con potencial anticonvulsivo (Velazco-Cercas *et al.*, 2017). Si este es utilizado en dosis bajas de 20 mg/kg este va a producir crisis de ausencia, estas se caracterizan por breves cambios del estado de conciencia, mientras que las dosis mayores a 50 mg/kg va a provocar crisis convulsivas de tipo clónico-tónico estas son muy parecidas a las convulsiones que sufren los humanos. El pentilentetrazol ha sido utilizado en ratas y se ha demostrado que en dosis altas este produce un patrón típico convulsivo este consiste en movimientos faciales, cola erguida seguido por espasmos musculares del cuello y tronco que posteriormente se van a propagar a las extremidades para posteriormente perder la postura y se desencadena la fase clínica que es una serie de movimientos involuntarios bruscos y más adelante sigue la crisis tónica que es una hiperextensión de las extremidades. Por

esto la administración del pentilentetrazol es considerado conveniente para estudiar las crisis tonicoclónicas generalizadas (Ramos-Morales *et al.*, 2012).

4. Antecedentes de la planta a estudiar

Diospyros digyna Jacq. es un árbol que pertenece a la familia Ebenaceae, comúnmente se le conoce como zapote negro o zapote prieto (**Figura 9**). Los individuos llegan a medir hasta 25 m y diámetro hasta de 1 m, tienen el tronco recto o torcido, con frecuencia acanalado, es de copa redondeada y densa, compuesta por ramas ascendentes, delgadas y luego colgantes, es una especie perennifolia, las hojas son alargadas o de forma ovada, miden 20 cm de largo. Son árboles dioicos, sus flores son blanquecinas, pequeñas y olorosas, florece de junio a agosto; el cáliz es persistente de 7-12 cm de diámetro. Fructifica entre agosto y enero, los frutos son bayas de forma globosa, el epicarpio (cáscara) se encuentra adherido a la pulpa, es de color verde olivo y verde brillante en la madurez fisiológica; el mesocarpio (pulpa) es de color amarillo-dorado en estado inmaduro y de coloración café a negra, abundante, suave y dulce en estado maduro, contiene de 6 a 10 semillas cafés por fruto envueltas por una membrana transparente (BDMTM, 2009, Niembro *et al.*, 2010, Merino-Sánchez, 2011).

El zapote negro es originario de las regiones tropicales húmedas de América. Su distribución geográfica comprende desde México hasta Costa Rica y Las Antillas, aunque puede ser cultivada fuera de esta zona por el interés que se tiene en sus frutos comestibles, por tal motivo se ha naturalizado en otros países paleotrópicos. En México se distribuye en clima cálido entre los 1000-1700 msnm, es una especie asociada al bosque tropical caducifolio, se ha registrado en los estados de Morelos, Campeche, Guerrero, Michoacán, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí, Tabasco, Veracruz (BDMTM, 2009, Niembro *et al.*, 2010, Merino-Sánchez, 2011).



Figura 9. *Diospyros digyna* Jacq. (Ebenaceae)
Foto tomada por Dante Avilés Montes. Chiconcuac, Morelos, Septiembre de 2021.

4.1 Clasificación taxonómica

Jacquin, 1798 clasifica esta especie de la siguiente manera:

Reino: Plantae

Phylum: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Dilleniidae

Orden: Ericales

Familia: Ebenaceae

Género: *Diospyros*

Especie: *Diospyros digyna*

Nombre científico: *Diospyros digyna* Jacq. (EcuRed, 2018).

4.2 Antecedentes del género *Diospyros*

El género *Diospyros* está conformado por alrededor de 500 especies, las cuales cuentan con numerosos recursos de importancia económica; los de mayor reconocimiento son sus frutos y madera (ébano), siendo *Diospyros kaki* la especie más reconocida por su fruto que es producido a gran escala en el Asia Oriental, aunque en México, la especie más aprovechada es *Diospyros digyna* (Basurto Peña *et al.*, 2015).

Este género ha sido ampliamente estudiado, varias de sus especies cuentan ya con múltiples investigaciones sobre su actividad ante diferentes padecimientos, así como compuestos encontrados resultado de los diferentes tipos de extractos. En la **Tabla 5** les presento solamente algunas de las especies del género que han demostrado tener importantes actividades, como antitumorales, analgésicos, antiinflamatorias y anticancerígenas. Aquí quisiera destacar la actividad hipnótico-sedante de *Diospyros lotus* y el efecto anticonvulsivante presente en *Diospyros fischeri*.

Tabla 5. Antecedentes de actividades encontradas en diferentes especies del género *Diospyros*.

Especie	Partes	Extracto	Actividad	Compuestos identificados	Referencia
<i>Diospyros filipéndula</i>	-	-	Actividad antimalarial	Triterpenos y ftalida	Awat Wisetsai <i>et al.</i> , (2020): Natural Product Research Journal, 35, 2739-2743.
	-	-	Anticancerígena en cáncer oral	Derivado del ácido benzoico, péptido, cumarina, ftalida,	
	-	-	Anticancerígena en cáncer de riñón	esteroide y triterpenos	
<i>Diospyros ehretioides</i>	-	-	Anticancerígena en cáncer cervical	Neftlenil, dihidroxymethyltetralone, triterpenos, derivados de las Naftoquinonas, cumarinas y ácido vanílico	Pattamaporn Wosawat, <i>et al.</i> , (2020): Natural Product Research Journal, 35, 4922-4929.
	-	-	Anticancerígena en cáncer de colon	Ehretione	
	-	-	Anticancerígena en cáncer de mama	-	
<i>Diospyros malabárica</i>	-	Metanol	Efecto hepatoprotector, analgésico y antiinflamatorio	-	Abdur Rauf, <i>et al.</i> , (2017): Biomedicine y Pharmacotherapy magazine; 91, 714-730.
<i>Diospyros variegata</i>	Corteza	<i>n</i> -hexano	Actividad antiinflamatoria y anticonceptiva	-	Abdur Rauf, <i>et al.</i> , (2017): Biomedicine y Pharmacotherapy magazine; 91, 714-730.
<i>Diospyros blancoi</i>	-	Metanol	Efecto protector contra el asma alérgico	-	Abdur Rauf, <i>et al.</i> , (2017): Biomedicine y Pharmacotherapy magazine; 91, 714-730.
<i>Diospyros kaki</i>	Hojas	Etanol	Efecto antielérgico y antiinflamatorio y antiapoptótico, antihipertensivo, antihipoglucemiante, mejora la circulación y baja niveles de colesterol, mejora patologías retinales	Gerberinol	Abdur Rauf, <i>et al.</i> , (2017): Biomedicine y Pharmacotherapy magazine; 91, 714-730.
	Piel	Acetona	Anticancerígena en cáncer oral	Mutatoxanthin	
	Hojas	Acuoso	Insecticida	-	
<i>Diospyros montana</i>	-	-	Actividad antiprotozoal	Biramentaceone, Cyclo Diospyrin, 2, 6-Dimethoxy-7-methoxycarbonyljuglone,	Abdur Rauf, <i>et al.</i> , (2017): Biomedicine y Pharmacotherapy

				8-Hydroxy-10-octadecenoic acid, Tetrahydrodiospyrin, Yerrinquinone	magazine; 91, 714-730.
<i>Diospyros assimilis</i>	Raíz	-	Actividad antiprotozoal	-	Abdur Rauf, <i>et al.</i> , (2017): Biomedicine y Pharmacotherapy magazine; 91, 714-730.
<i>Diospyros sylvatica</i>	-	Metanol	Actividad antiprotozoal	-	Abdur Rauf, <i>et al.</i> , (2017): Biomedicine y Pharmacotherapy magazine; 91, 714-730.
<i>Diospyros peregrina</i>	Fruto	Metanol	Reduce niveles de glucosa en diabéticos	-	Abdur Rauf, <i>et al.</i> , (2017): Biomedicine y Pharmacotherapy magazine; 91, 714-730.
<i>Diospyros melanoxylon</i>	Hojas	Etanol	Hipoglucémico, antiadiposo, antidiabético y hipolipídico	3,30-Bi[6-hydroxy-5-methoxy-2-methylnaphthoquinone], 4,11-Dihydroxy-5-methoxy-2,9-dimethyldinaphtho[1,2-b:20,30-d]furan-7,12-quinon, 5-Methoxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone, a,4,40,6-Tetrahydroxyaurone	Abdur Rauf, <i>et al.</i> , (2017): Biomedicine y Pharmacotherapy magazine; 91, 714-730.
<i>Diospyros lotus</i>	-	Metanol	Antiinflamatorio, analgésico, antitumoral, hipnótico-sedante y antimicrobial	Methylgallate, Kaempferol, Myricetin, Myricetin 3-O-beta-glucuronide, Myricetin-3-O-alpha-rhamnoside, Ellagic acid, Gallic acid, Quercetin.	Abdur Rauf, <i>et al.</i> , (2017): Biomedicine y Pharmacotherapy magazine; 91, 714-730.
	-	Cloroformo	Antimicrobial	Lupeol, 7-methyljuglone, b-sitosterol, stigmasterol, betulinic acid diospyrin and 8-hydroxyisodiospyrin	
<i>Diospyros ebenum</i>	-	Metanol	Antibacterial (pseudomonas, salmonella)	Ebenone	Abdur Rauf, <i>et al.</i> , (2017): Biomedicine y Pharmacotherapy magazine; 91, 714-730.
<i>Diospyros piscatoria</i>	Raíz	-	Antibacterial	-	Abdur Rauf, <i>et al.</i> , (2017): Biomedicine y Pharmacotherapy magazine; 91, 714-730.
<i>Diospyros lycioides</i>	Hojas	Metanol	Inhibe el crecimiento de patógenos orales	5,8-Dihydroxy-2-methyl-1,4-naphthalenedione,	Abdur Rauf, <i>et al.</i> , (2017):

				9Cl. Ramentone. Methylnaphthazarin	2-	Biomedicine y Pharmacotherapy magazine; 91, 714-730.
<i>Diospyros crassiflora</i>	Corteza	Metanol	Antimicrobial (tuberculosis) bactericida	Crassiflorone		Abdur Rauf, <i>et al.</i> , (2017): Biomedicine y Pharmacotherapy magazine; 91, 714-730.
		Diclorometano	Fungicida	-		
<i>Diospyros anisandra</i>	Hojas, raíz y corteza	<i>n</i> -hexano	Antimicrobial (tuberculosis)	Naphtoquinonas		Abdur Rauf, <i>et al.</i> , (2017): Biomedicine y Pharmacotherapy magazine; 91, 714-730.
<i>Diospyros gracilipes</i>	Hojas y corteza	Etanol	Antimicrobial contra <i>Staphylococcus aureus</i> , y <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	-		Abdur Rauf, <i>et al.</i> , (2017): Biomedicine y Pharmacotherapy magazine; 91, 714-730.
<i>Diospyros glans</i>	Corteza	Acetato de Etilo	Antimicrobial	-		Abdur Rauf, <i>et al.</i> , (2017): Biomedicine y Pharmacotherapy magazine; 91, 714-730.
<i>Diospyros cordifolia</i>	Corteza	Metanol	Actividad antiinflamatoria	-		Abdur Rauf, <i>et al.</i> , (2017): Biomedicine y Pharmacotherapy magazine; 91, 714-730.
	Hojas	-	Analgésico	-		
<i>Diospyros fischeri</i>	Corteza	Etanol	Anticonvulsivante (dependiente de la dosis)	-		Abdur Rauf, <i>et al.</i> , (2017): Biomedicine y Pharmacotherapy magazine; 91, 714-730.
<i>Diospyros mespiliformis</i>	Raíz	Metanol	Efecto analgésico, antimicrobial.	-		Abdur Rauf, <i>et al.</i> , (2017): Biomedicine y Pharmacotherapy magazine; 91, 714-730.

4.3 Usos y empleo etnomédico.

De manera comercial su madera es reconocida como de excelente calidad, con características semejantes a las del ébano, lo cual permite su empleo en la fabricación de cabezas para palos de golf, esculturas, teclas para piano, muebles finos, enchapados, mangos para cuchillos, navajas y cepillos. Aunque es su principal producto, el fruto, el que es sumamente apreciado como complemento alimenticio, ya que se ocupa para la elaboración de mermeladas, gelatinas, ates e incluso en aguas frescas (CONABIO, 2009).

En la medicina tradicional, el fruto se ha utilizado como laxante ligero e hipoglucemiante, en algunas poblaciones se cree que posee propiedades medicinales para tratar la diabetes, artritis, cáncer y enfermedades cardiovasculares (Arredondo *et al.*, 2018).

Sus cualidades van desde antibióticas y propiedades para aliviar dolores de garganta hasta para curar el insomnio y diuréticas. En especial en el estado de Michoacán, se usa para los nervios: suelen hervir la corteza con hojas para lograr un efecto tranquilizante que cura los problemas de insomnio y tiene efecto tranquilizante en personas con trastornos de ansiedad, por esto mismo se ha aconsejado de generación en generación, su uso como té para las noches y así lograr una respuesta natural reguladora del sueño (BDMTM, 2009).

Las infusiones son la forma más común de ingesta por uso medicinal del Zapote Negro, estas infusiones aparte de ser sedantes y ansiolíticas, tienen como fin normalizar niveles de presión arterial y calmar dolores, incluso el dolor de picaduras de alacrán (Gobierno de México, 2017)

4.4 Farmacología y fitoquímica.

Mallavadhani en Ramírez-Briones (2017) reporta que se han estudiado cerca de 130 especies de *Diospyros* en las cuales se detecta la presencia de carotenoides, taninos, azúcares, carbohidratos, lípidos, compuestos aromáticos, flavonoides,

cumarinas, esteroides, terpenoides y naftoquinonas en hoja, tallo, raíz, flor, fruto, semilla y corteza, siendo los triterpenos y las naftoquinonas los que se han encontrado de manera más abundante y con presencia en prácticamente todos los tejidos lo que nos indicaría que forman parte de la huella química del género.

En extractos provenientes de hojas de *Diospyros digyna* Jacq., se ha evidenciado la actividad antioxidante (Ramírez-Briones *et al.*, 2015) y en el fruto se ha reportado la presencia de flavonoides, quinonas, sapogeninas y cumarinas (Merino-Sánchez, 2011).

5. Justificación

Según la Organización Mundial de la Salud, 1 de cada 4 personas en el mundo padecerá a lo largo de su vida un trastorno mental. Los trastornos mentales causan afectación en los procesos afectivos y cognitivos, al estado de ánimo, el pensamiento y el comportamiento y son una fuente importante de discapacidad de las personas, estadísticamente las mujeres son más proclives a desarrollarlas que los varones. El tratamiento de los trastornos mentales es prolongado y muchas veces se ven resultados después de varias semanas; también es por todos conocida la limitada eficacia, acompañada de numerosas reacciones adversas, de los diferentes fármacos actualmente en uso; debido a esto ha surgido la necesidad de desarrollar nuevos medicamentos, eficaces y mejor tolerados. Esto ha llevado a que, en los años recientes, se haya reactivado el interés en los productos de origen natural como medicinas alternativas o complementarias en el tratamiento de trastornos mentales. *Diospyros digyna* Jacq. es una planta empleada en la medicina tradicional por medio de infusiones para relajar, calmar los nervios e inducir sueño, estos antecedentes de la medicina tradicional indican que tiene un efecto a nivel del sistema nervioso; también se han realizado algunos estudios científicos en donde se han identificado compuestos químicos con actividad antioxidante, por lo que esta planta es una gran candidata para evaluar su actividad antidepresiva, ansiolítica, sedante, y anticonvulsivante en modelos *in vivo*.

6. Pregunta de investigación

¿La administración del extracto metanólico de las hojas de *Diospyros digyna* Jacq. a ratones CD-1 modificará su neurotransmisión, presentando alguno de los siguientes efectos: ansiolítico, antidepresivo, hipnótico y/o anticonvulsiva?

7. Hipótesis

La administración oral del extracto metanólico de las partes aéreas de *Diospyros digyna* Jacq. a ratones CD-1 modificará la comunicación en el sistema nervioso

presentando actividad ansiolítica, antidepresiva, hipnótica y/o anticonvulsiva en modelos *in vivo*.

8. Objetivos

8.1 Objetivo general

Evaluar el efecto antidepresivo, ansiolítico, sedante, hipnótico y anticonvulsivo del extracto metanólico de *Diospyros digyna*.

8.2 Objetivos particulares

1. Obtener un extracto de metanol de las partes aéreas de *Diospyros digyna*.
2. Evaluar la actividad antidepresiva del extracto metanólico de hojas de *Diospyros digyna* en ratones CD-1 en el modelo de nado forzado.
3. Evaluar la actividad ansiolítica del extracto metanólico de hojas de *Diospyros digyna* en ratones CD-1 en el modelo de laberinto elevado en forma de cruz.
4. Evaluar la actividad sedante del extracto metanólico de hojas de *Diospyros digyna* en ratones CD-1 en el modelo de campo abierto.
5. Evaluar el efecto hipnótico del extracto metanólico de hojas de *Diospyros digyna* en ratones CD-1 en el modelo de potenciación del estado hipnótico de pentobarbital.
6. Evaluar el efecto anticonvulsivo del extracto metanólico de hojas de *Diospyros digyna* en ratones CD-1 en el modelo de convulsiones inducidas con pentilentetrazol.
7. Determinar el grupo de productos naturales presentes en el extracto de metanol mediante un análisis químico, así como la identificación de compuestos utilizando técnicas cromatográficas.

9. Material y métodos

9.1 Diseño experimental

La metodología que se empleó en el presente estudio se muestra en el siguiente diagrama experimental (**Figura 10**).

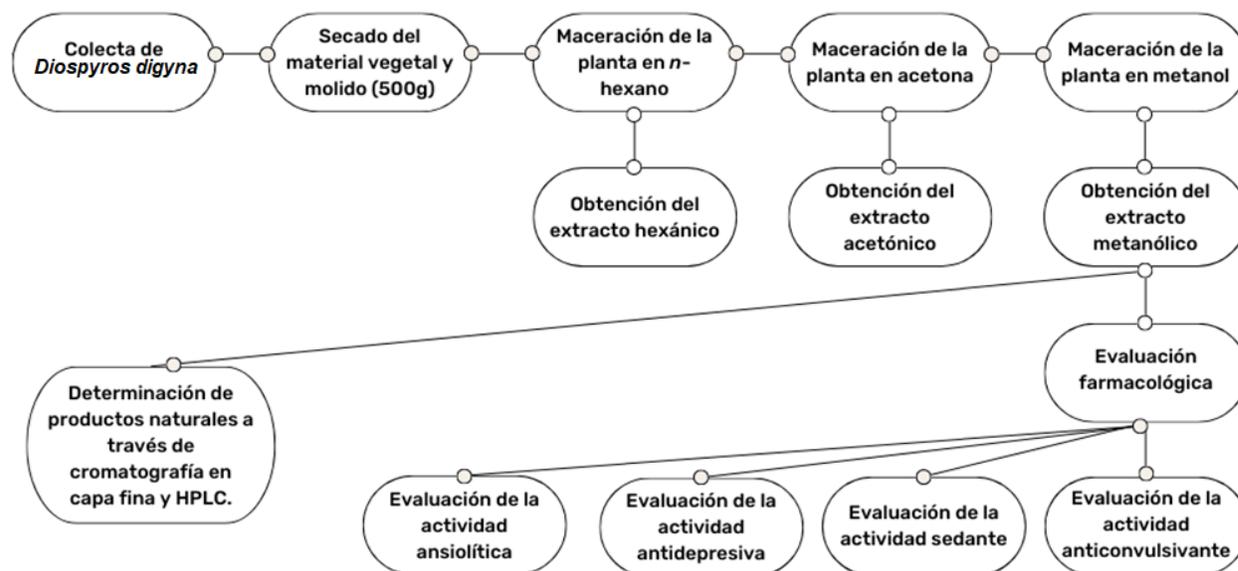


Figura 10. Metodología empleada en el presente estudio

9.2 Metodología General.

El diazepam (DZP) fue comprado a Sigma Chemical (St. Louis, MO, USA) y el pentilentetrazol (PTZ) fue adquirido en Cryopharma S.A. de C.V. (Guadalajara, Jal. México). La imipramina (IMI) fue adquirida en Laboratorios Silanes, S.A. de C.V., el pentobarbital, fue comprado de Pisabental de la empresa PiSA AGROPECUARIA, S.A. DE C.V. Los disolventes *n*-hexano, acetona, metanol, diclorometano y acetonitrilo fueron adquiridos de Mallinckrodt Baker (Phillipsburg, NY, USA). Los extractos y las sub-fracciones se separaron y se analizaron mediante métodos cromatográficos como la cromatografía en columna (CC), la cromatografía en capa fina (CCF) analítica. Las cromatoplasmas en capa fina fase normal son de sílica gel 60 y las de fase reversa son RP-18 y fueron compradas de Merck KGaA (Darmstadt, Germany). Las placas fueron reveladas con NP-PEG: 2-amino-etil-difenil-borimato (para detección de compuestos

del grupo flavonoides) y reactivo de Komarovsky: 4- hidroxibenzaldehído (prueba para detección del grupo de terpenos) además se utilizó el revelador sulfato cérico amoniacal al 1% en H₂SO₄ 2N. Por otro lado, los compuestos presentes en el extracto metanólico (DdEM) fueron observados con la ayuda de una lámpara compacta de Luz ultravioleta 95-021-12 (115v) Uvp Uvgl-25 254/365 nm donde se observaron diversas manchas de los mismos constituyentes. Un equipo de Cromatografía Líquida de Alta resolución (HPLC) marca Waters 2695, equipado con un detector de matriz de fotodiodos Waters 2996 fue utilizado para la determinación del grupo de compuestos polares presentes en el extracto de estudio.

9.3 Colecta del material vegetal

La colecta de las hojas de *Diospyros digyna* se realizó de un árbol ubicado en el municipio de Xochitepec, Morelos, en la Calle Reforma, Col. Centro, Chiconcuac, Morelos, México (18° 47' 0.06" N, 99° 12' 9.4" W) a una altitud de 1164 msnm, el 22 de septiembre del 2021. Una muestra fue enviada para su identificación taxonómica al herbario (HUMO) del Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, la cual fue identificada por el M. en C. Gabriel Flores Franco con número de herbario 35166 (Anexo 1). Se obtuvieron 4,000 g de material fresco.

9.4 Obtención de extractos

El material vegetal se secó durante 15 días, en un espacio donde no le diera luz directa y no hubiese humedad. Posteriormente el material seco (850 g) se trituró en un molino manual para reducir su tamaño a partículas de 3-5 mm. La maceración se llevó a cabo en el transcurso de tres días y por tres ocasiones, por cada 500 g de planta se utilizaron 2750 mL de cada disolvente (buscando que se cubriera la planta en su totalidad) en forma ascendente de polaridad *n*-hexano, acetona y metanol, cubriendo en su totalidad el contenido de la planta en el recipiente utilizando (**Figura 11**). El disolvente fue eliminado por destilación a presión reducida con la ayuda de un evaporador rotatorio marca BUCHI Mod. R-215 (**Figura 12**). Los extractos se secaron en su totalidad con la ayuda de una campana de extracción, después de esto, se

almacenaron en congelador marca mabe a -18 °C, para posteriormente ser utilizados en las pruebas farmacológicas y en el fraccionamiento fitoquímico.



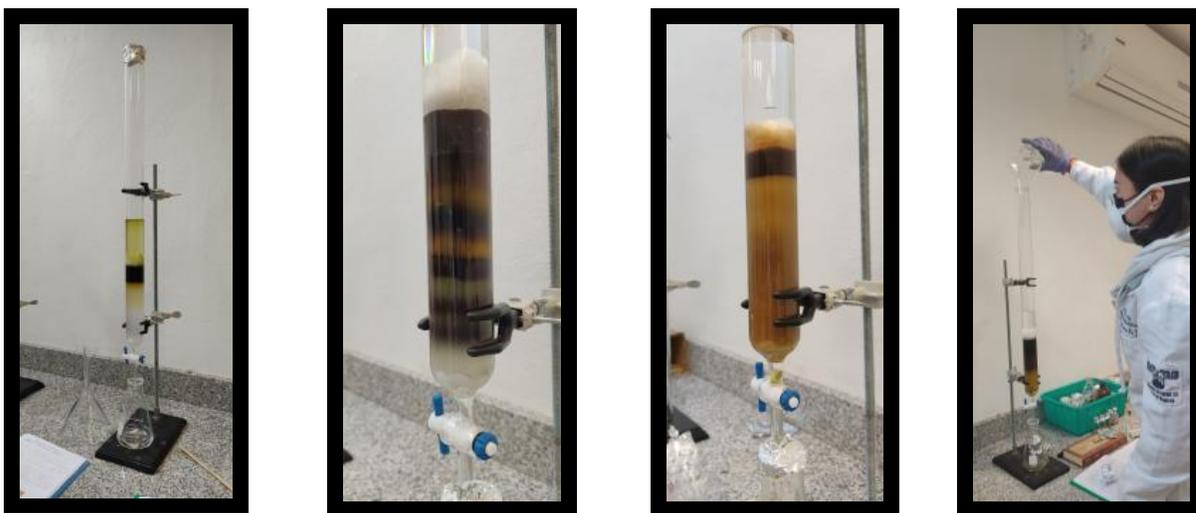
Figura 11. Maceración de hojas de *Diospyros digyna*



Figura 12. Destilación a presión reducida para la obtención del extracto

9.5 Fraccionamiento químico de DdEM

Se adsorbieron 5 g del extracto metanólico de *Diospyros Digyna* (DdEM) en 10 g de sílica gel 60:230, los cuales fueron separados en una columna abierta empacada con 60 g de sílice (**Figura 13**), el sistema de gradiente que se utilizó fue diclorometano-metanol (**Tabla 00**), comenzando con una fase diclorometano 100%, posteriormente se eluyó con diclorometano-metanol 90-10%, luego diclorometano-metanol 80-20%, y así hasta llegar a 50-50% de diclorometano-metanol, por último, la columna se lavó con metanol 100%; obteniendo un total de 31 fracciones de 100 mL cada una (**Figura 14-16**).



Figuras 13-16. Fraccionamiento químico en columna de vidrio de DdEM

Tabla 6. Fraccionamiento químico de DdEM de *Diospyros digyna*.

Polaridad del sistema	Fracciones	Subfracción	Clave	Cantidad (mg)
Diclorometano (100%)	1-5	1-7	DdEM 1-7	0.6455 mg
Diclorometano-Metanol (90:10)	6-11	8-10	DdEM 8-10	0.6198 mg
Diclorometano-Metanol (80:20)	12-16	11-20	DdEM 11-20	1.256 mg
Diclorometano-Metanol (70:30)	17-21	21-23	DdEM 21-23	1.559 mg
Diclorometano-Metanol (60:40)	22-26	24-31	DdEM 24-31	1.383 mg
Diclorometano-Metanol (50:50)	27-31			
Metanol (100%)	Lavado	L	DdEM L	1.336 mg

9.6 Cromatografía en Placa Fina (CCF)

Se utilizó la CCF para la determinación de compuestos de tipo flavonoide o terpenoide, de acuerdo con la metodología general.

9.7 Análisis por HPLC

El análisis cromatográfico se realizó con un sistema HPLC (Delta Prep 4000, Waters, Milford, MA, EE. UU.) equipado con un módulo de separación Waters 2695, un detector de matriz de fotodiodos (Waters 996) y el software Pro Empower (Waters);

para la separación química, se conectó una columna Supelcosil LC-F de fase inversa (250 mm x 4 mm, tamaño de partícula de 5 µm) (Merck, Darmstadt, Alemania) a una columna de guarda. Como fase móvil se utilizó agua acidificada con 0,5% de TFA (disolvente A) y acetonitrilo (disolvente B). El sistema de gradiente fue el siguiente 0-1 min, 0% de B; 2-3 min, 5% de B, 4-20 min, 30% de B; 21-23 min, 50% de B 14-15 min; 24-25 min, 80% de B; 26-27 100% de B; 28-30 min, 0% de B. El volumen de inyección de la muestra fue de 10 µl y el caudal se mantuvo en 0,9 mL min⁻¹. La absorbancia se midió a 252.9 nm para determinar compuestos de tipo flavonoide algunos se identificaron por comparación con los datos de los compuestos estándar registrados en una base de datos de nuestro grupo de trabajo.

9.8 Tratamientos

Se formaron 8 grupos (**Figura 17**) con una $n= 6$ ratones, los grupos 1 al 5 corresponden a grupos experimentales, el grupo 6 es el grupo de Vehículo (control negativo), el grupo 7 es diazepam (Control positivo para los modelos de Laberinto elevado en forma de cruz, campo abierto, potenciación del estado hipnótico del pentobarbital y convulsiones inducidas con petilentetrazol, el grupo 8 es Imipramina (control positivo del modelo de nado forzado).

Grupo 1	DdEM (50 mg/kg)	} Grupos experimentales
Grupo 2	DdEM (100 mg/kg)	
Grupo 3	DdEM (150 mg/kg)	
Grupo 4	DdEM (200 mg/kg)	
Grupo 5	DdEM (250 mg/kg)	
Grupo 6	Vehículo (100 µL/10 g)	Control negativo
Grupo 7	Diazepam (1 mg/kg)	Control positivo
Grupo 8	Imipramina (15 mg/kg)	Control positivo

Figura 17. Formación de los grupos de ratones.

9.6 Animales de experimentación

Se emplearon ratones macho (*Mus musculus*) ICR (CD-1) y se formaron 8 grupos con una $n=6$, en un rango de peso de 20 - 30 g, que fueron utilizados para todas las pruebas, estos se adquirieron en el bioterio de la Facultad de Medicina de la UAEM. El manejo de los animales de experimentación se llevó a cabo siguiendo la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio). Los ratones se mantuvieron en cajas de acrílico con una cama limpia de viruta de madera y se mantuvo a una temperatura de $22\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$, $70\% \pm 5\%$ de humedad con ciclos de 12 h de luz oscuridad con libre acceso a agua y alimento (**Figura 18**).



Figura 18. Grupos de ratones en sus respectivas cajas con agua y alimento libre y su cama de viruta de madera.

9.7 Análisis estadístico.

Los resultados obtenidos se expresaron como la media \pm Desviación Estándar (DEM), los datos fueron analizados usando un análisis de varianza de una vía (One way - ANOVA) y post-prueba de Tukey con un nivel de significancia de $p < 0.05$. El software estadístico empleado fue Jamovi Stats 2.3.18 (Sydney, Australia).

10. Pruebas farmacológicas

Estos modelos farmacológicos están basados en el uso de animales de experimentación no humanos y han sido validados a nivel intencional.

10.1 Nado forzado (NF)

Para la realización de esta prueba se emplearon cilindros de plexiglás de 20 cm de alto y un diámetro de 12 cm en una superficie plana, cada uno de ellos se llenó con agua (25 ± 1 °C) a una profundidad de 16 cm. Los cilindros fueron separados por un dispositivo de madera con 6 divisiones, lo cual permitió el registro del comportamiento de 6 animales a la vez (**Figura 19**). El experimento consistió en tres fases: la primera se denomina “de entrenamiento”, la cual consiste en exponer a cada ratón al cilindro lleno de agua durante 15 minutos, una vez transcurrido este tiempo los animales fueron colocados sobre un paño limpio, colocados en una caja con cama de aserrín limpio y expuestos a una lámpara de luz incandescente para su secado (**Figura 20**). La segunda fase del experimento consistió en administrar el tratamiento correspondiente. En la tercer fase o fase de prueba, los animales se colocaron nuevamente dentro del cilindro y se evaluó su comportamiento durante 5 min. El parámetro que fue evaluado es “Tiempo de inmovilidad” (tiempo en el cual los ratones realizan los movimientos mínimos para permanecer a flote y respirar). Al transcurrir el tiempo de la prueba, los animales se secaron y posteriormente se colocaron en una caja con cama de viruta limpia. Durante la primera y segunda fase, los cilindros se lavaron con una toalla de papel limpia y humedecida en etanol al 10% y vueltos a llenar con agua para la prueba del siguiente grupo. Cada experimento fue filmado con una cámara de video para el posterior análisis de los resultados.



Figura 19. Prueba de nado forzado grupo 50 kg/mg.



Figura 20. Secado de ratones posterior a la prueba realizada.

10.2 Laberinto Elevado en forma de cruz (LEC)

Para el laberinto elevado en forma de cruz se empleó un laberinto construido de acrílico el cual tiene forma de cruz, el centro tiene 5 x 5 cm, los brazos abiertos y cerrados de 30 cm de largo x 5 cm de ancho; la altura de las paredes de los brazos cerrados de 15 cm. Los animales serán colocados en el centro del laberinto y se registrarán por 5 min los parámetros de: porcentaje del tiempo de permanencia en brazos abiertos (%TA) y porcentaje del tiempo de permanencia en los brazos cerrados (%TC), además de algunos parámetros etológicos como estiramientos verticales, acicalamiento, asomadas. Un aumento en el %TA es indicativo de disminución de la ansiedad (**Figura 21**).

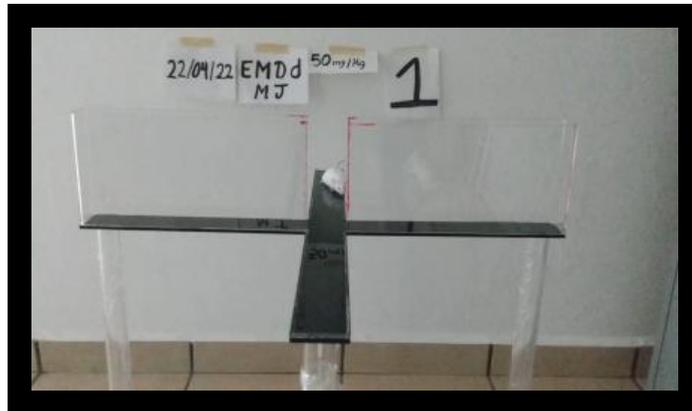


Figura 21. Ratón 1 perteneciente al grupo 50 mg/kg en el laberinto elevado en forma de cruz.

10.3 Campo abierto (CA)

El dispositivo empleado para esta prueba es una caja construida con acrílico, la cual tiene paredes transparentes y un fondo negro (30 x 30 x 15 cm). El fondo está dividido en 9 cuadrados de la misma área; el dispositivo se eleva del suelo 5 cm. La prueba consistió en colocar en el dispositivo al roedor y durante 5 min se registró el número de cruces totales en la superficie del campo (suma del número de cruces al cuadrante del centro y a la periferia) y la frecuencia de estiramientos verticales (**Figura 22**).

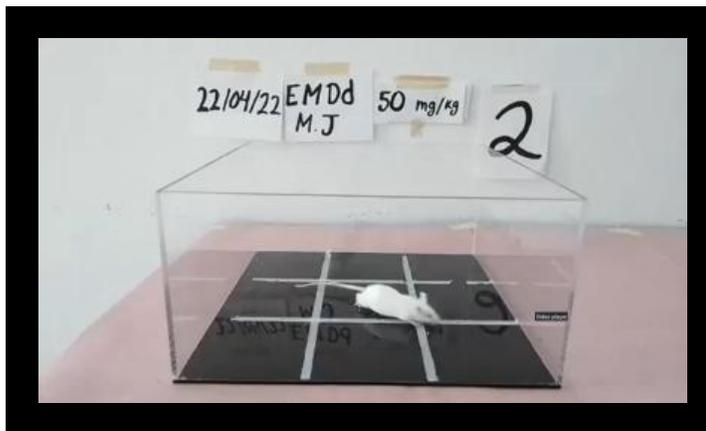


Figura 22. Evaluación del efecto sedante en el dispositivo de campo abierto.

10.4 Potenciación del estado hipnótico del pentobarbital

Para realizar esta prueba, a los ratones de los diferentes grupos experimentales después de recibir su esquema de administración (24, 18 y 1 h, *v.o.*), se les administró pentobarbital sódico (PISABENTAL, 30 mg/kg, *i.p.*), y cada ratón se colocó en una caja de acrílico transparente, con ayuda de un cronómetro digital se registró: 1) la latencia de sueño: el tiempo que el animal tarda en perder el reflejo de enderezamiento, y 2) tiempo de sueño inducido por pentobarbital: periodo en que tarda el animal en recuperar el reflejo de enderezamiento.

10.5 Convulsiones inducidas con pentilentetrazol

Los ratones después de haber recibido su tratamiento correspondiente (24, 18 y 1 h antes de la evaluación), fueron administrados con pentilentetrazol (100 mg/kg, *i.p.*) y se colocaron en una caja transparente de plexiglás para su observación durante 30 minutos. Se registraron los siguientes parámetros:

- a) Latencia de las convulsiones. Es el tiempo que transcurre desde la administración de pentilentetrazol hasta que aparece la primera convulsión.
- b) Número de convulsiones tónicas.
- c) Número de convulsiones clónicas.
- d) Número de convulsiones tónico-clónicas
- e) Número de convulsiones totales

f) Tiempo de muerte (en caso de presentarse). 11. Resultados

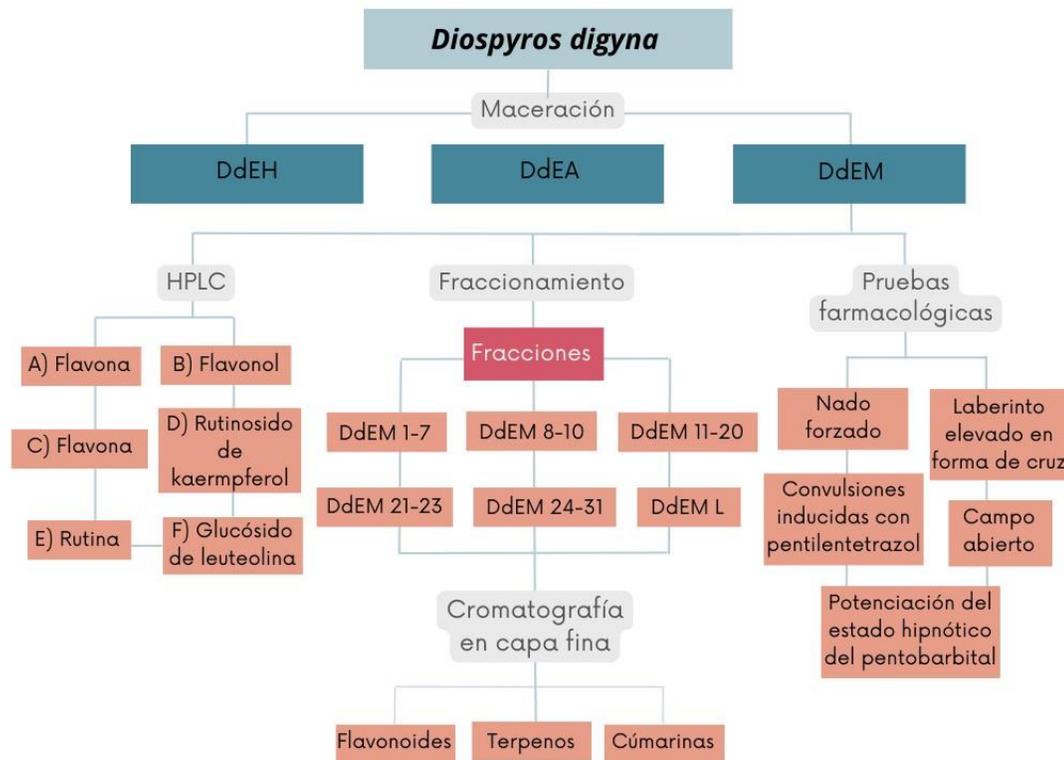


Figura 23. Estrategia de separación fitoquímica de *Diospyros digyna*.

11.1 Rendimiento del extracto metanólico de *Diospyros digyna* Jacq.

Las hojas secas de *D. digyna*, fueron extraídas primeramente con *n*-hexano para eliminar los componentes lipídicos del contenido metabólico del material seco de esta especie vegetal, un extracto de *n*-hexano fue obtenido con un rendimiento de 2.87% (DdEH). Un proceso de separación se realizó al mismo material una vez evaporado en su totalidad el *n*-hexano, el disolvente utilizado fue acetona del cual se obtuvo un extracto con rendimiento del 8.55% (DdEA). Este mismo material vegetal fue macerado con metanol para obtener los compuestos más polares de la planta, el rendimiento de este extracto metanólico fue de 1.51% (DdEM).

11.2 Resultados del DdEM en la prueba de nado forzado (NF).

En la **Figura 24**, se muestra que la administración oral de 15 mg/kg del fármaco Imipramina (IMI), indujo una notable disminución notable en el tiempo de inmovilidad de los ratones durante el bioensayo de nado forzado. Dicho efecto fue significativamente diferente en comparación con el grupo que recibió el vehículo $**= p < 0.05$. El efecto antidepressivo de DdEM, se presentó en todas las dosis evaluadas (50-250 mg/kg), observándose un mejor efecto al mostrado por el grupo de IMI.

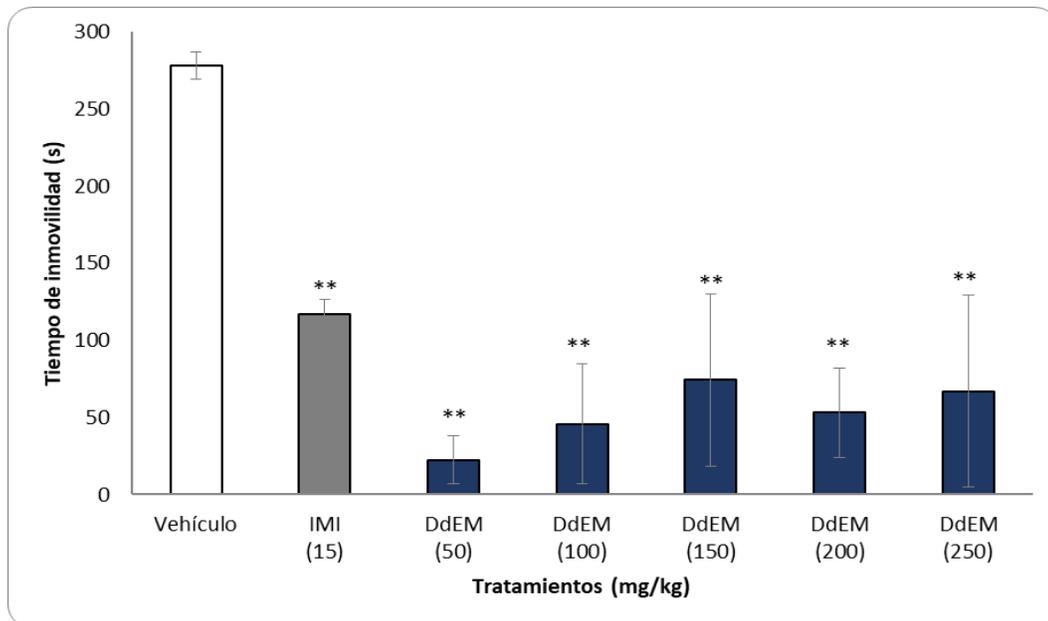


Figura 24. Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Diospyros digyna* (DdEM) sobre el tiempo de inmovilidad de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de Nado forzado. $**= p < 0.05$ con ANOVA seguida de una prueba post hoc de Tukey (media \pm D.S.). vehículo (100 μ L/10 g); IMI = clorhidrato de Imipramina; DdEM extracto metanólico de *Diospyros digyna*.

11.3 Resultados del DdEM en la prueba de laberinto elevado en forma de cruz (LEC).

En la **Figura 25** se muestra el porcentaje de la permanencia en los brazos abiertos del modelo de Laberinto Elevado en forma de Cruz. El grupo de Diazepam (1 mg/kg) aumentó el porcentaje de tiempo de permanencia a los brazos abiertos en comparación del vehículo ($p < 0.001$). El grupo DdEM (150 mg/kg v.o.) incrementó el porcentaje de tiempo de permanencia en los brazos abiertos en comparación con el

vehículo. Las dosis de 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg y 250 mg/kg de DdEM, no presentaron diferencia significativa en comparación del vehículo ($p > 0.05$).

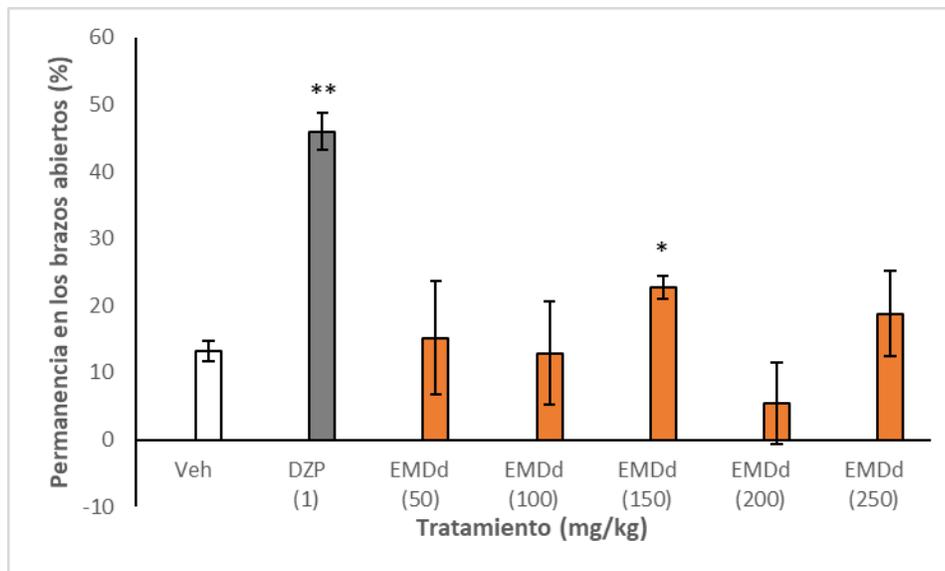


Figura 25. Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Diospyros digyna* (EMDd) sobre el porcentaje del tiempo en los brazos abiertos de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de LEC. **= $p < 0.001$, *= $p < 0.05$ con ANOVA seguida de una prueba post hoc de Tukey (media \pm D.S.). Veh, vehículo (100 μ L/10 g); DZP, diazepam; EMDd, extracto metanólico de *Diospyros digyna*.

Otros parámetros fueron contabilizados para la evaluación de la prueba de LEC, estos fueron; entradas a brazos abiertos y cerrados, asomadas, estiramientos verticales y bolos fecales, en la **Figura 26** se observa el porcentaje de entradas a brazos abiertos, en esta gráfica se plasma el porcentaje de las entradas a los brazos abiertos de los ratones CD-1, expuestos en la prueba de Laberinto Elevado en forma de Cruz, se expresa que el grupo de Diazepam (1 mg/kg, *i.p.*) incrementó el porcentaje de entradas a los brazos abiertos en comparación del vehículo ($p < 0.001$). Las dosis de 50 mg/kg, 100 mg/kg, 150 mg/kg, 200 mg/kg y 250 mg/kg de DdEM no presentaron diferencia significativa en comparación del vehículo ($p > 0.05$).

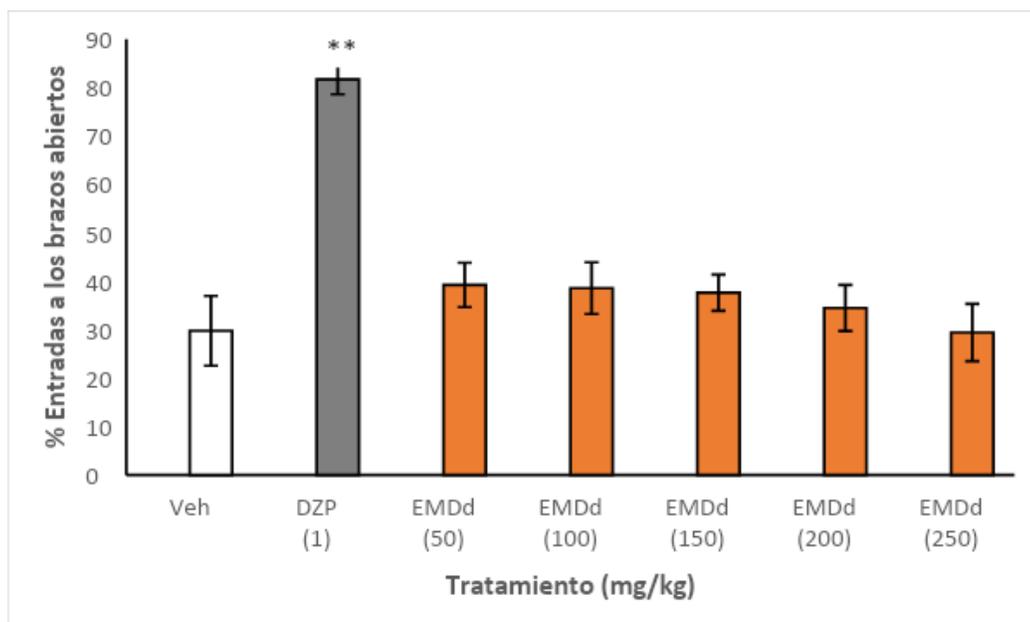


Figura 26. Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Diospyros digyna* (EMDd) sobre el porcentaje del de las entradas a los brazos abiertos de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de LEC. **= $p < 0.001$ con ANOVA seguida de una prueba *post hoc* de Tukey (media \pm D.S.). Veh, vehículo (100 μ L/10 g); DZP, diazepam; EMDd, extracto metanólico de *Diospyros digyna*.

11.4 Resultados del DdEM en la prueba de campo abierto (CA).

En la **Figura 27** se observa el número de cruces totales de los ratones CD-1 en la prueba de Campo Abierto, el grupo administrado con el fármaco diazepam (1 mg/kg), no modificó significativamente el comportamiento de los ratones en el número de cruces totales en comparación con el vehículo ($p > 0.05$). Así como las dosis administradas de 50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg tampoco modificaron este comportamiento en comparación con el vehículo ($p > 0.05$), lo cual significa que el extracto no modificó la actividad motora espontánea.

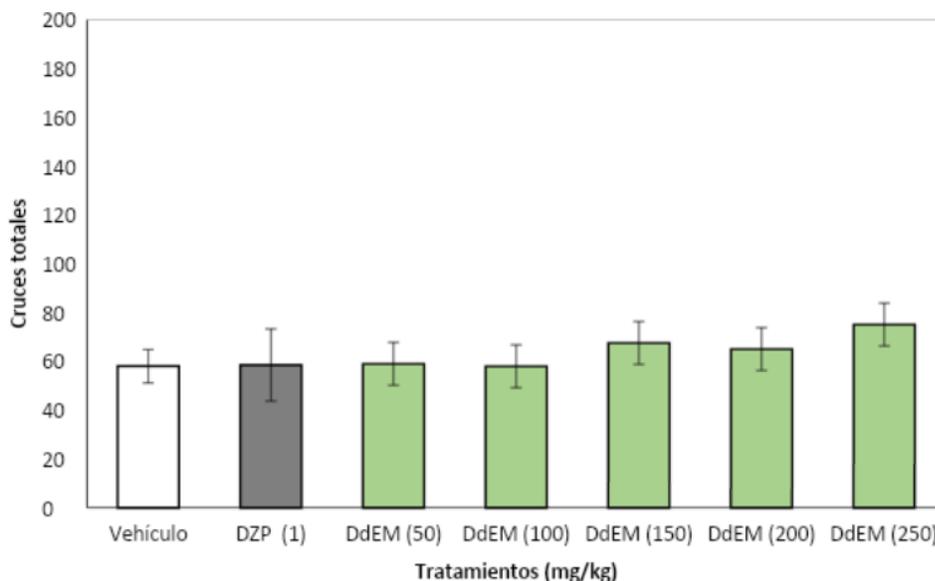


Figura 27. Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Diospyros digyna* (DdEM) sobre el número total de cruces de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de CA. con ANOVA seguida de una prueba post hoc de Tukey (media \pm D.S.). Veh, vehículo (100 μ L/10 g); DZP, diazepam (1 mg/kg); DdEM extracto metanólico de *Diospyros digyna*.

En la **Figura 28** se observa la gráfica del número de cruces en el centro, el grupo administrado con el control positivo (diazepam), no presentó modificaciones en el número de cruces totales en comparación con el vehículo ($p > 0.05$). De igual manera las dosis administradas de 50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg de DdEM no modificaron este parámetro en comparación con el vehículo ($p > 0.05$), lo cual significa que el extracto no modificó la actividad motora espontánea.

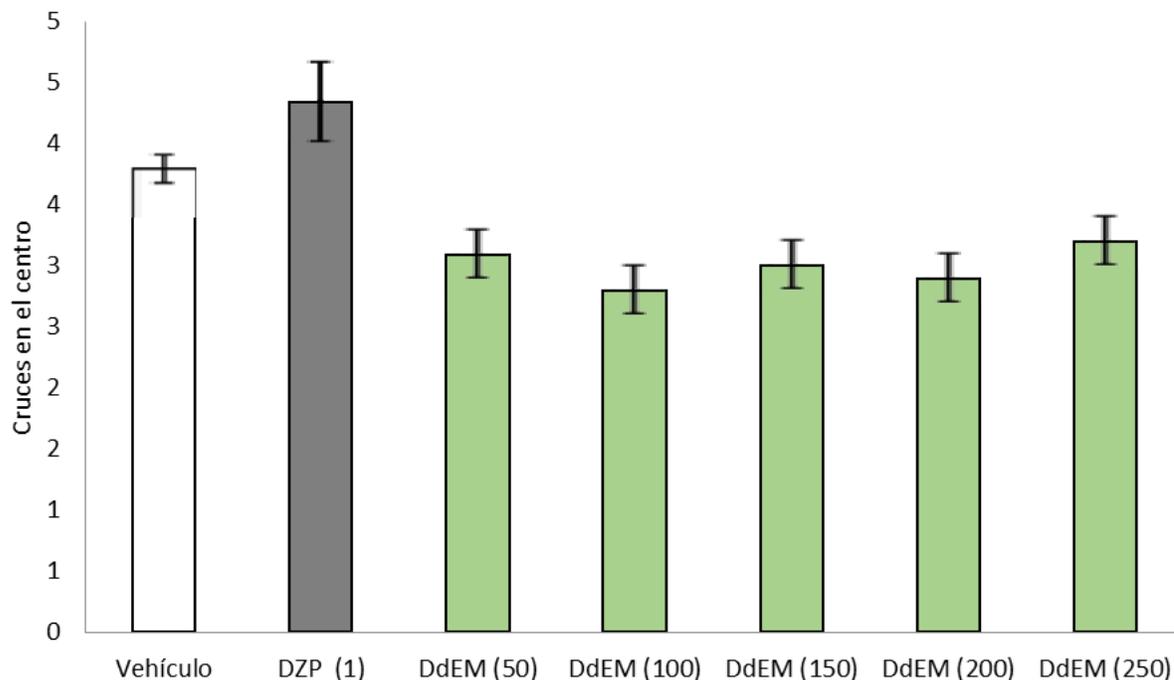


Figura 28. Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Diospyros digyna* sobre el número de cruces en el centro de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de CA con ANOVA seguida de una prueba *post hoc* de Tukey (media \pm D.S.). Veh, vehículo (100 μ L/10 g); DZP, Diazepam; DdEM extracto metanólico de *Diospyros digyna*.

11.5 Resultados del DdEM en la prueba de potenciación del pentobarbital.

En la **Figura 29** se observa que la administración del control positivo (diazepam, 1 mg/kg), presentó un tiempo de latencia del sueño significativamente corto en comparación con el vehículo ($p < 0.001$), además el diazepam generó un tiempo de sueño inducido de 1616.66 segundos, resultado significativo al compararlo con el grupo del vehículo ($p < 0.001$), el cual no entró en estado de sueño. Las dosis administradas del extracto metanólico de *Diospyros digyna* 50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg no modificaron este parámetro en comparación con el vehículo ($p > 0.05$), lo cual significa que el extracto no potenció el estado hipnótico del pentobarbital.

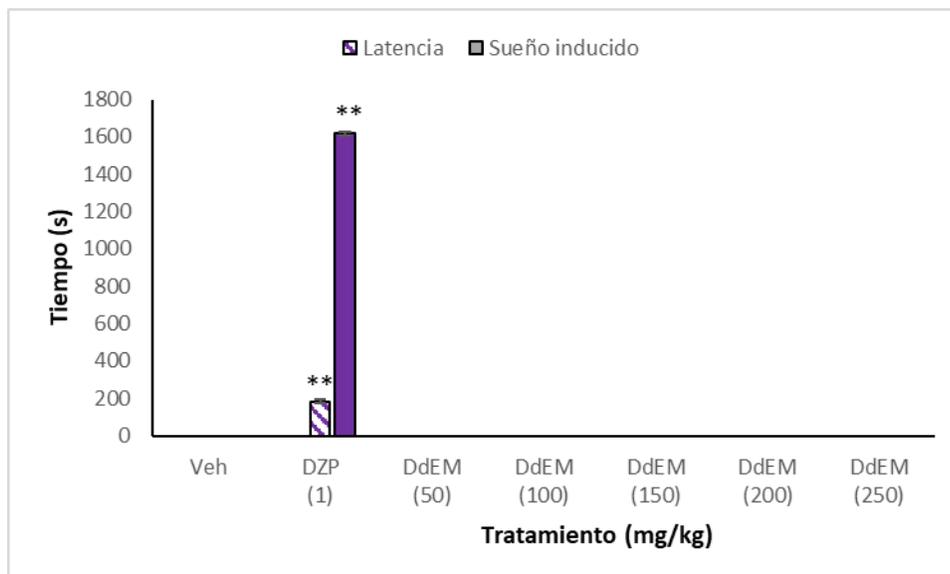


Figura 29. Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Diospyros digyna* Jacq. (DdEM) sobre el tiempo de latencia y tiempo de narcosis inducida por el pentobarbital de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de Potenciación del estado hipnótico del pentobarbital. **= $p < 0.001$ con ANOVA seguida de una prueba *post hoc* de Tukey (media \pm D.S.). Veh, vehículo (100 μ L/10 g); DZP, Diazepam; DdEM extracto metanólico de *Diospyros digyna*.

11.6 Resultados del DdEM en la prueba de convulsiones inducidas con pentilentetrazol.

En la **Figura 30** se muestra que la administración de diazepam a 1 mg/kg, *i.p.* prolongó el tiempo de latencia de las convulsiones en comparación con el vehículo ($p < 0.001$), lo cual corresponde al efecto farmacológico que causan los fármacos anticonvulsivos. Las dosis administradas vía oral de DdEM a 50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg, no modificaron la latencia de las convulsiones en comparación con el vehículo ($p > 0.05$).

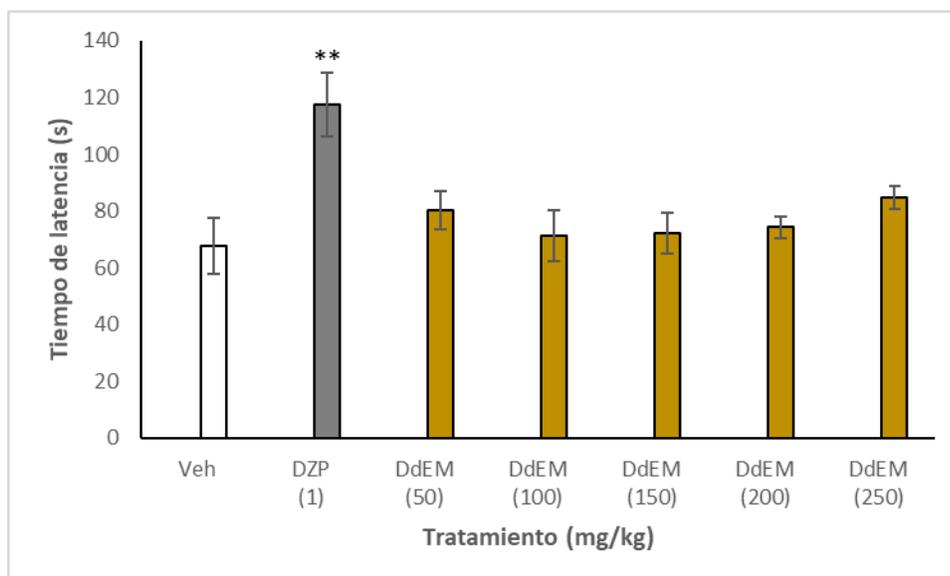


Figura 30. Efecto de la administración oral del extracto metanólico de *Diospyros digyna* Jacq. (DdEM) sobre el tiempo de latencia de los ratones CD-1 expuestos a la prueba de convulsiones inducidas con pentilentetrazol. **= $p < 0.001$ con ANOVA seguida de una prueba *post hoc* de Tukey (media \pm D.S.). Veh, vehículo (100 μ L/10 g); DZP, Diazepam; DdEM extracto metanólico de *Diospyros digyna*.

En la **Figura 31** se muestra que la administración de diazepam a 1 mg/kg, *i.p.* tuvo un efecto reductor del número de convulsiones totales en comparación con el vehículo ($p < 0.001$), esto corresponde a un fármaco anticonvulsivo. La dosis administrada vía oral de DdEM a 100 mg/kg tuvo un efecto importante en la disminución en el total de las convulsiones ($p > 0.05$). Las dosis de 50, 150, 200 y 250 mg/kg también presentaron una disminución en el total del número de convulsiones, estas con una significancia de $p < 0.001$.

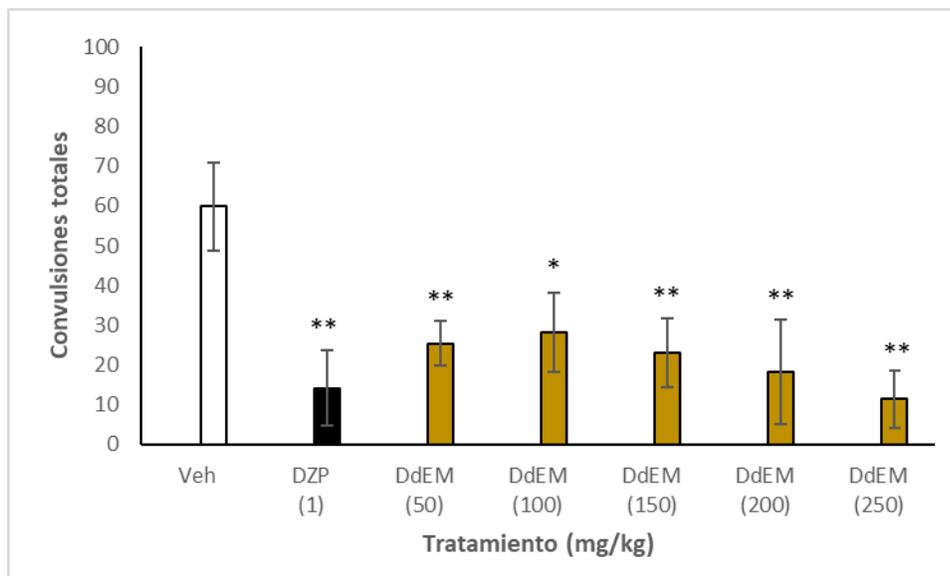


Figura 31. Efecto sobre el número de convulsiones totales con la administración oral del extracto metanólico de *Diospyros digyna* Jacq. (DdEM) sobre los ratones CD-1 expuestos a la prueba de convulsiones inducidas con pentilentetrazol. **= $p < 0.001$, *= $p < 0.05$ con ANOVA seguida de una prueba post hoc de Tukey (media \pm D.S.). Veh, vehículo (100 μ L/10 g); DZP, Diazepam; DdEM extracto metanólico de *Diospyros digyna*.

En la **Tabla 7** se observa que el DdEM tuvo una protección contra la mortalidad en su 100% en todas sus dosis administradas (50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg), presentando una diferencia estadísticamente significativa en comparación con el porcentaje obtenido por el vehículo ($p < 0.001$). Esto nos indica que las diferentes dosis presentaron un efecto neuroprotector.

Tabla 7. Efecto anticonvulsivante del extracto metanólico de *Diospyros digyna* (DdEM) sobre las convulsiones inducidas con PTZ en ratones CD-1.

Tratamientos (mg/kg)	Latencia (s) media \pm DE	Protección contra la mortalidad (%)
Veh (10 μ L/10 g)	67.66 \pm 09.87	0
DZP (1.0)	117.37 \pm 11.26**	100 **
DdEM (50)	80.25 \pm 06.60	100 **
DdEM (100)	71.25 \pm 08.80	100 **
DdEM (150)	72.12 \pm 118.20	100 **
DdEM (200)	74.25 \pm 03.86	100 **
DdEM (250)	84.80 \pm 04.02	100 **

Los datos se presentan como la media \pm desviación estándar con $n=6$. * $p<0.05$, ** $p<0.001$ comparado con el vehículo usando un ANOVA y una prueba *post hoc* de Tukey. Veh, vehículo; DZP, diazepam; DdEM, extracto metanólico de *Diospyros digyna*.

11.7 Cromatografía en capa fina

Después de realizar las tres extracciones, se realizó un análisis por cromatografía en capa fina de los extractos obtenidos con *n*-hexano (DdEH), acetona (DdEA) y metanol (DdEM), en diferentes sistemas y con LUV, a continuación, se presentan las fotos.

Las **Figuras 32 y 33** nos muestran las placas de cromatografía fase normal (FN), sin revelar, observadas bajo luz UV de onda larga y UV de onda corta. De izquierda-derecha; 1. DdEH, 2. DdEA, 3. DdEM

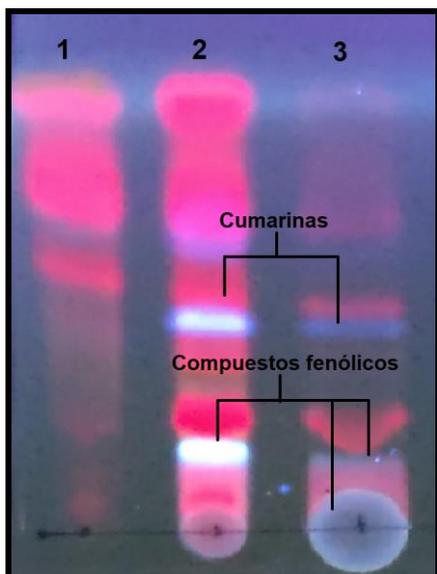


Figura 32. Placa de cromatografía fase normal, sin revelar, observada bajo luz UV de onda larga. De izquierda-derecha; 1. DdEH, 2. DdEA, 3. DdEM.

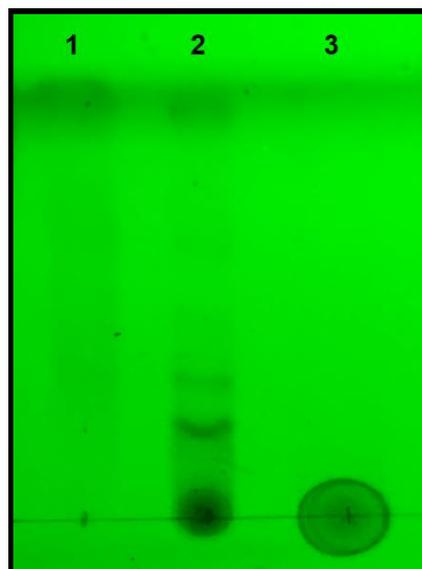


Figura 33. Placa de cromatografía fase normal, sin revelar, vista bajo luz UV de onda corta. Orden izquierda-derecha; 1. DdEH, 2. DdEA, 3. DdEM.

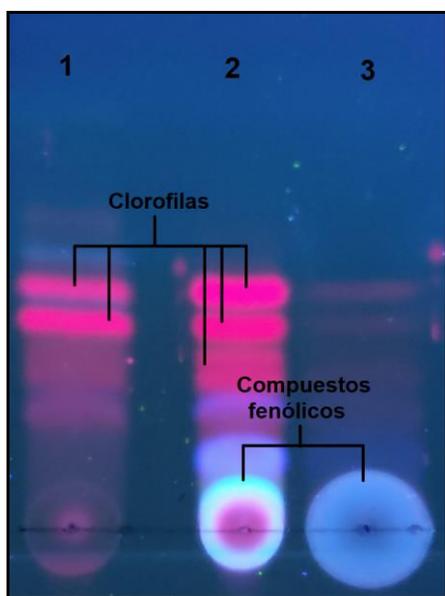


Figura 34. Placa de cromatografía fase normal revelada con NP-PEG (flavonoides), observada bajo luz UV de onda larga. De izquierda-derecha; 1. DdEH, 2. DdEA, 3. DdEM.

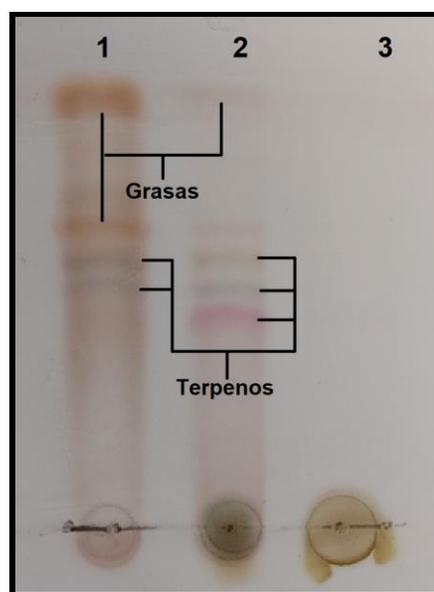


Figura 35. Placa de cromatografía fase normal revelada con reactivo de Komarovskiy (terpenos), observada bajo luz natural. De izquierda-derecha; 1. DdEH, 2. DdEA, 3. DdEM.

Las **Figuras 36 y 37** muestran la cromatografía en capa fina fase reversa de los extractos aislado de *Diospyros digyna*, con la finalidad de poder observar los compuestos más polares que contiene esta especie vegetal.

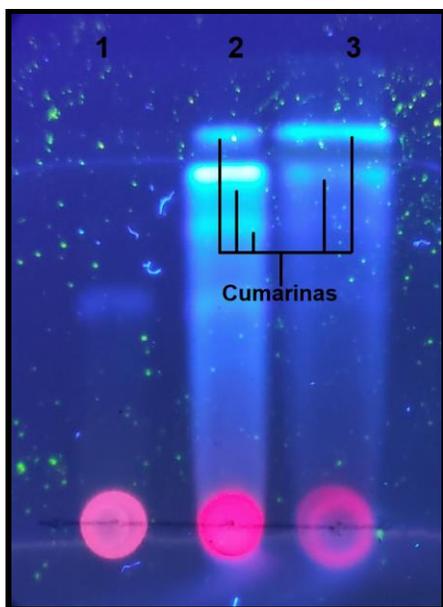


Figura 36. Placa de cromatografía fase reversa sin revelar, observada bajo luz UV de onda larga. De izquierda-derecha; 1. DdEH, 2. DdEA, 3. DdEM.

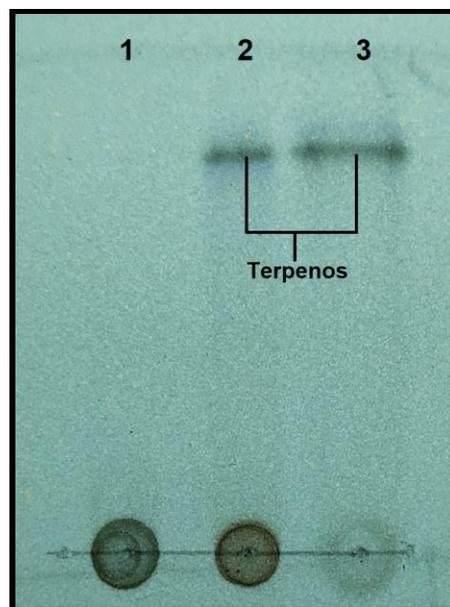


Figura 37. Placa de cromatografía fase reversa sin revelar, observada bajo luz UV de onda corta. De izquierda-derecha; 1. DdEH, 2. DdEA, 3. DdEM.

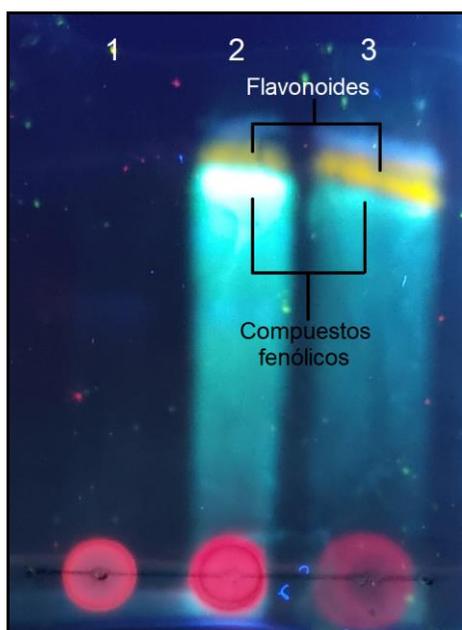


Figura 38. Placa de cromatografía fase reversa revelada con NP-PEG (flavonoides), observada bajo luz UV de onda larga. De izquierda-derecha; 1. DdEH, 2. DdEA, 3. DdEM.

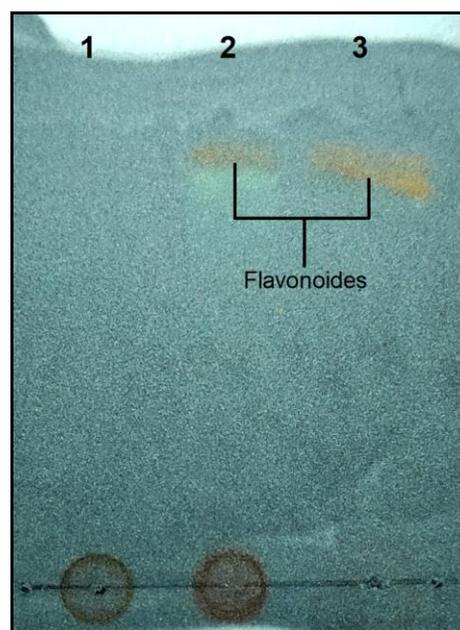


Figura 39 Placa de cromatografía fase reversa revelada con NP-PEG (flavonoides), observada bajo luz UV de onda corta. De izquierda-derecha; 1. DdEH, 2. DdEA, 3. DdEM.

Las 31 fracciones de la Tabla 6, se analizaron mediante cromatografía en capa fina, de la 1-24 en fase normal, con un sistema 95:5 diclorometano-metanol y de la 25-31, en fase reversa con un sistema 50:50 agua-acetonitrilo, todas fueron observadas mediante luz UV de onda larga y corta, además fueron reveladas con NP-PEG (flavonoides) y reactivo de Komarovsky (terpenos). Se realizaron placas cromatográficas distribuyendo las fracciones de 8 en 8 por cada placa utilizando el extracto metanólico (DdEM) íntegro como referencia en ambos casos:

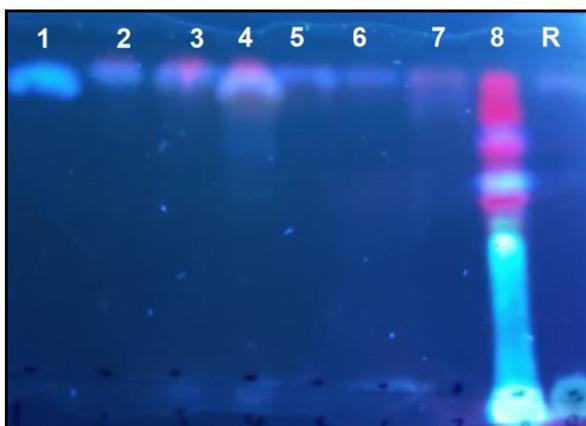


Figura 40. Placa de cromatografía fase normal vista bajo luz de onda larga, orden izquierda-derecha; fracción 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, Referencia (EM).

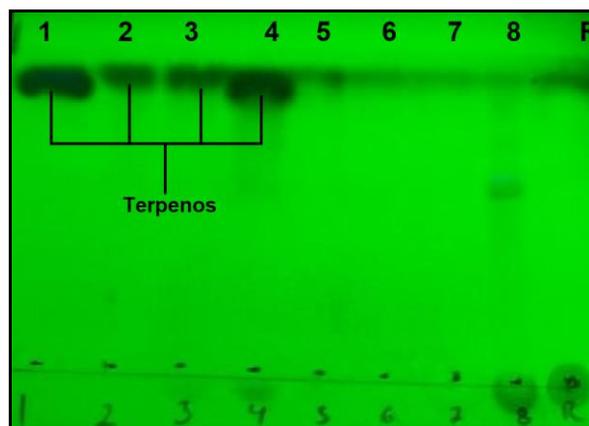


Figura 41. Placa de cromatografía fase normal vista bajo luz de onda corta, orden izquierda-derecha; fracción 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, Referencia (EM).

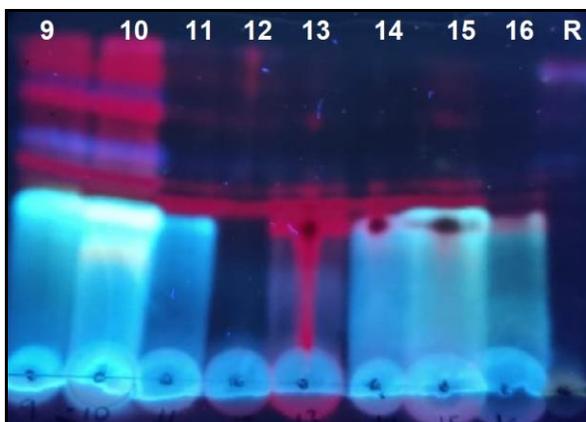


Figura 42. Placa de cromatografía fase normal vista bajo luz de onda larga, orden izquierda-derecha; fracción 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, Referencia (EM).

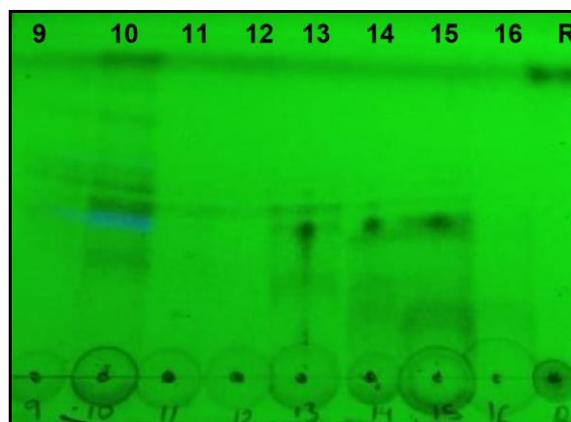


Figura 43. Placa de cromatografía fase normal vista bajo luz de onda corta, orden izquierda-derecha; fracción 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, Referencia (EM).



Figura 44. Placa de cromatografía fase normal vista bajo luz de onda larga, orden izquierda-derecha; fracción 17, 18, 19, 20, 21, 22, 21, 24, Referencia (EM).

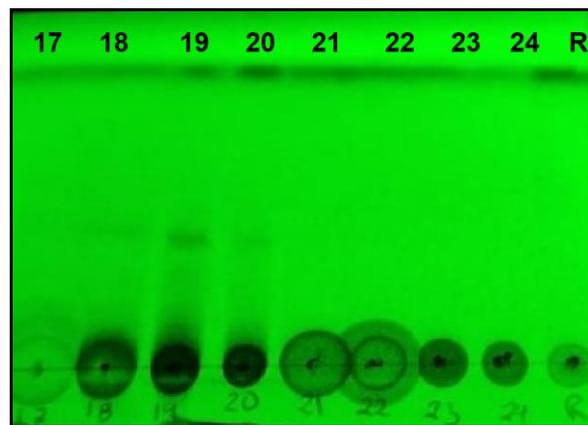


Figura 45. Placa de cromatografía fase normal vista bajo luz de onda larga, orden izquierda-derecha; fracción 17, 18, 19, 20, 21, 22, 21, 24, Referencia (EM).

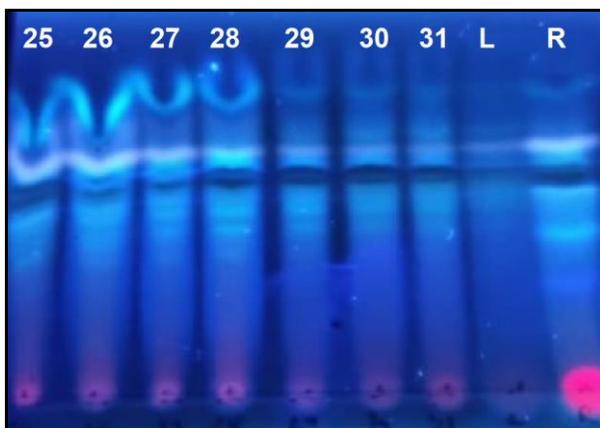


Figura 46 Placa de cromatografía fase reversa vista bajo luz de onda larga, orden izquierda-derecha; fracción 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, L (lavado), Referencia (EM).

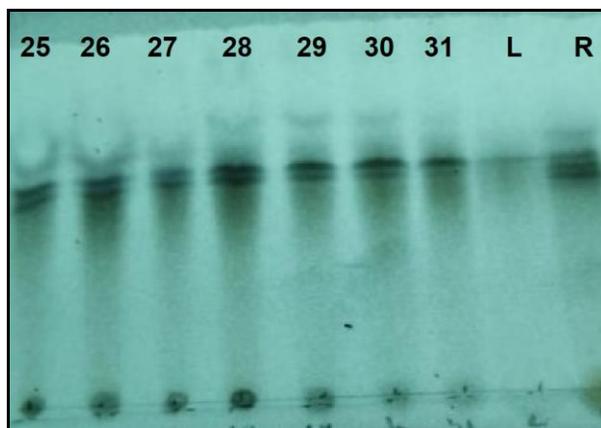


Figura 47. Placa de cromatografía fase reversa vista bajo luz de onda larga, orden izquierda-derecha; fracción 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, L (lavado), Referencia (EM).

Posteriormente se hicieron reuniones de acuerdo con la semejanza de los compuestos encontrados en cada fracción, obteniendo así 6 reuniones, se elaboraron placas de cromatografía e1-n capa fina en fase normal y reversa, corriéndose en una fase móvil de diclorometano-metanol 95:5 en fase reversa y 50:50 agua-acetonitrilo (Tabla 6).

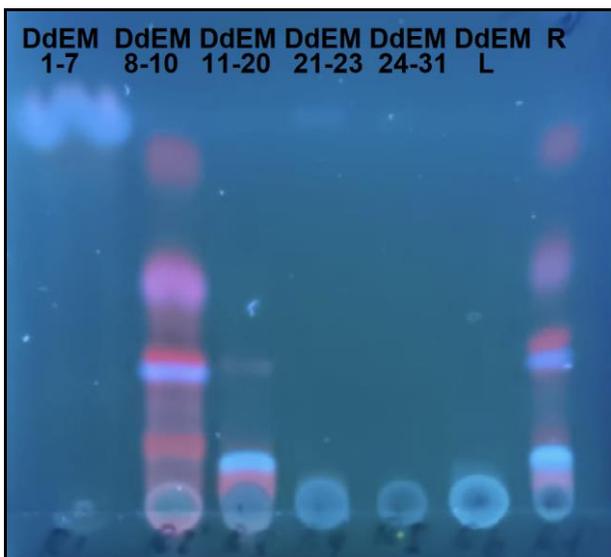


Figura 48. Placa de cromatografía de reuiones, fase normal, sin revelar, observada bajo luz UV de onda larga.

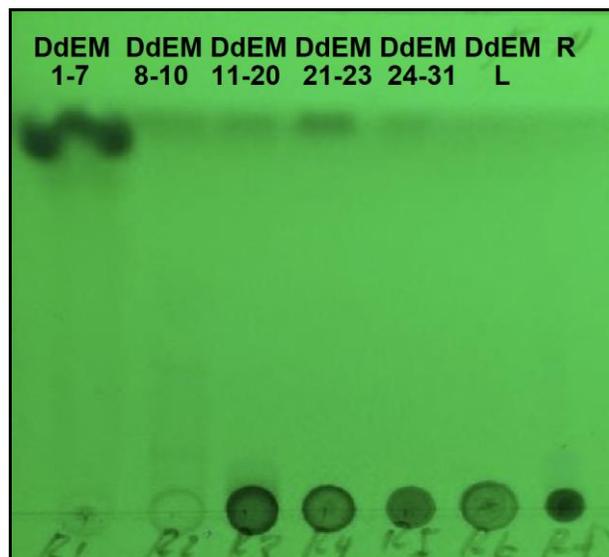


Figura 49. Placa de cromatografía de reuiones, fase normal, sin revelar, observada bajo luz UV de onda corta.

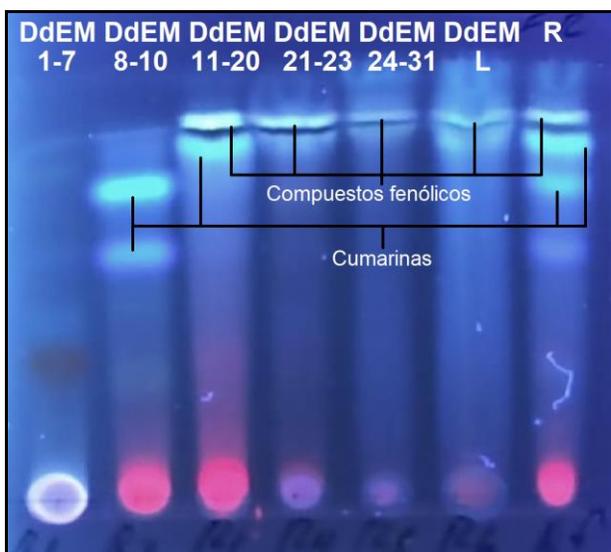


Figura 50. Placa de cromatografía de reuiones, fase normal, sin revelar, observada bajo luz UV de onda larga.

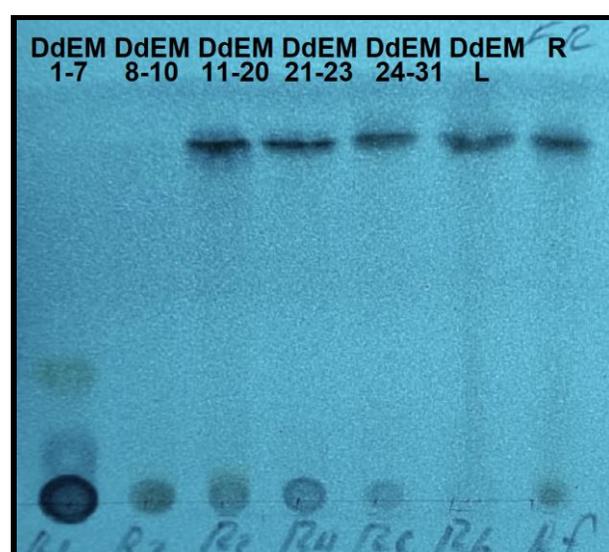


Figura 51 Placa de cromatografía de reuiones, fase normal, sin revelar, observada bajo luz UV de onda corta.

Las placas fueron reveladas con NP-PEG (flavonoides) y reactivo de Komarovsky (terpenos).

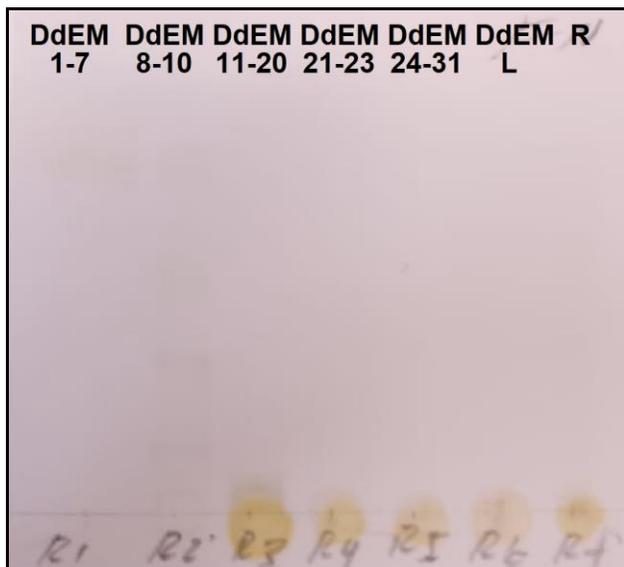


Figura 52. Placa de cromatografía de reuiones, fase normal, reveladas con NP-PEG (flavonoides), observada bajo luz natural

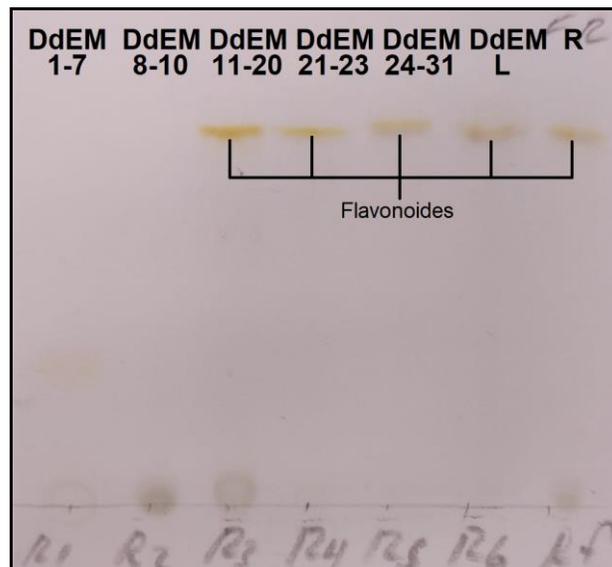


Figura 53. Placa de cromatografía de reuiones, fase normal, reveladas con NP-PEG (flavonoides), observada bajo luz natural.



Figura 54. Placa de cromatografía de reuiones, fase normal, reveladas con NP-PEG (flavonoides), observada bajo luz UV de onda larga.

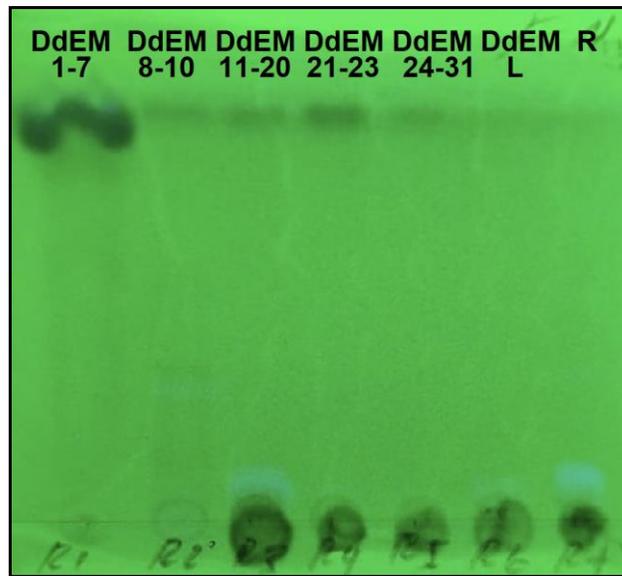


Figura 55. Placa de cromatografía de reuiones, fase normal, reveladas con NP-PEG (flavonoides), observada bajo luz UV de onda corta.

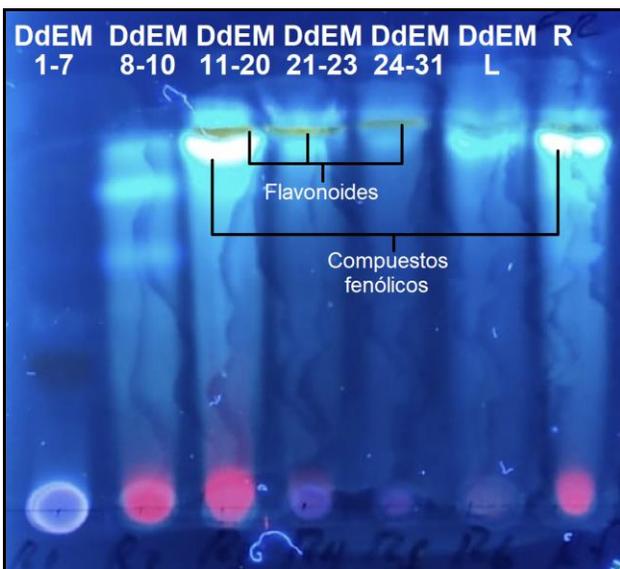


Figura 56. Placa de cromatografía de reuniones, fase reversa, reveladas con NP-PEG (flavonoides), observada bajo luz UV de onda larga.

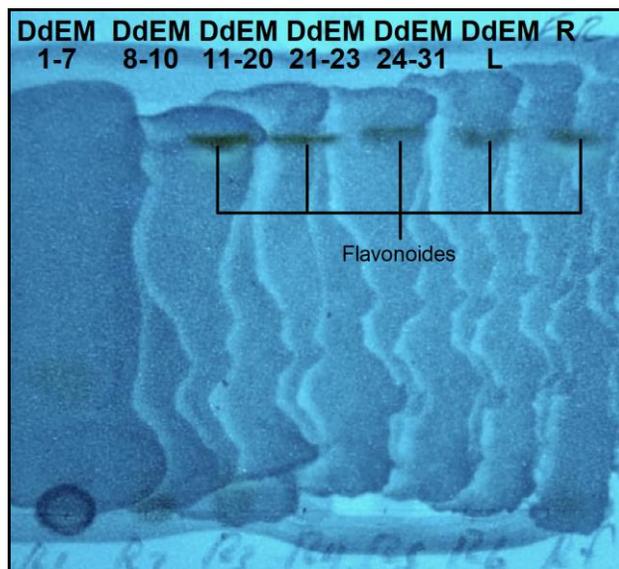


Figura 57. Placa de cromatografía de reuniones, fase reversa, reveladas con NP-PEG (flavonoides), observada bajo luz UV de onda corta.

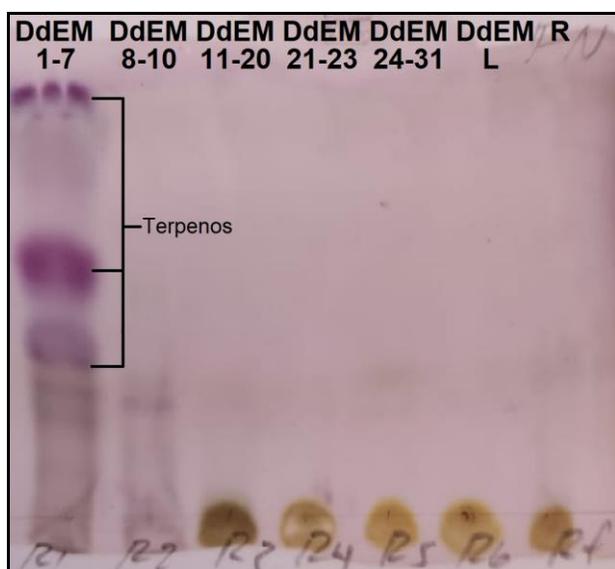


Figura 58. Placa de cromatografía de reuniones, fase normal, revelada con reactivo de Komarovsk (terpenos), observada bajo luz natural.

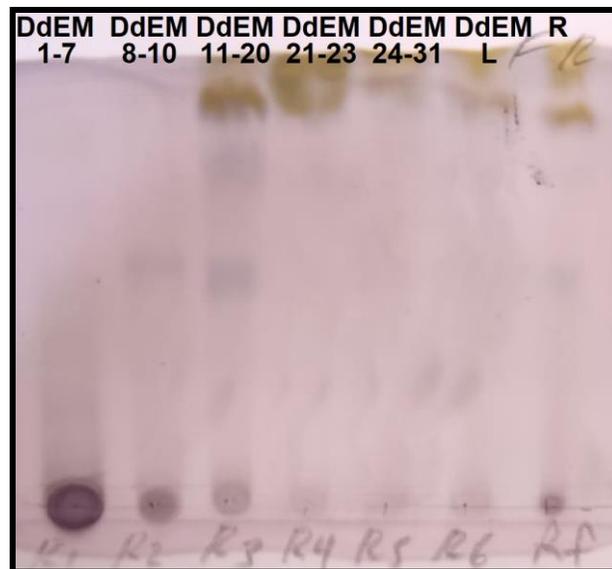


Figura 59. Placa de cromatografía de reuniones, fase reversa, revelada con reactivo de Komarovsk (terpenos), observada bajo luz natural.

El análisis cromatográfico muestra la presencia de compuestos de tipo terpenoide y flavonoide presentes en esta planta. En el revelado con LUV, se pudo observar la presencia de posibles compuestos de tipo cumarina (Wagner y Bladt, 1996).

11.8 Análisis de HPLC

El cromatograma de HPLC de DdEM (Anexo 2), se muestra en la **Figura 60** El tiempo de retención y los espectros UV del extracto de metanol de las hojas de *Diospyros digyna*, mostraron la presencia de flavonoides, en primera instancia se logró determinar un compuesto de tipo flavona (pico A) debido al tiempo de retención de 8.480 min y un espectro de UV de $\lambda_{nm} = 225.1, 288.8, 341.0, 425.9, 470.5$ y 557.9 ; un flavonol (pico B), con un tiempo de retención de 8.641 min y un espectro de UV de $\lambda_{nm} = 200.5, 254.5, 357.7, 506.8, 521.4$ y 540.8 ; una flavona (pico C) con un tiempo de retención de 8.786 min y un espectro de UV de $\lambda_{nm} = 227.4, 345.8, 477.8, 532.3$ y 550.6 ; el rutinosido de kaempferol (pico D), debido al tiempo de retención de 8.902 min y un espectro de UV de $\lambda_{nm} = 204.0, 258.0, 355.3, 459.6, 499.6$ y 560.3 ; rutina (pico E), debido al tiempo de retención de 9.070 y un espectro UV de $\lambda_{nm} = 205.2, 255.7, 356.5, 452.4, 471.7$ y 527.5 ; por último fue detectado el glucósido de luteolina (pico F) debido al tiempo de retención de 9.431 y un espectro UV de $\lambda_{nm} = 200.5, 266.3, 347.0, 418.6$ y 529.9 . Rutinosido de kaempferol, Rutina y el glucósido de luteolina contenidos en este extracto vegetal se identificaron por comparación con los datos de los compuestos estándar registrados en una base de datos de nuestro grupo de trabajo.

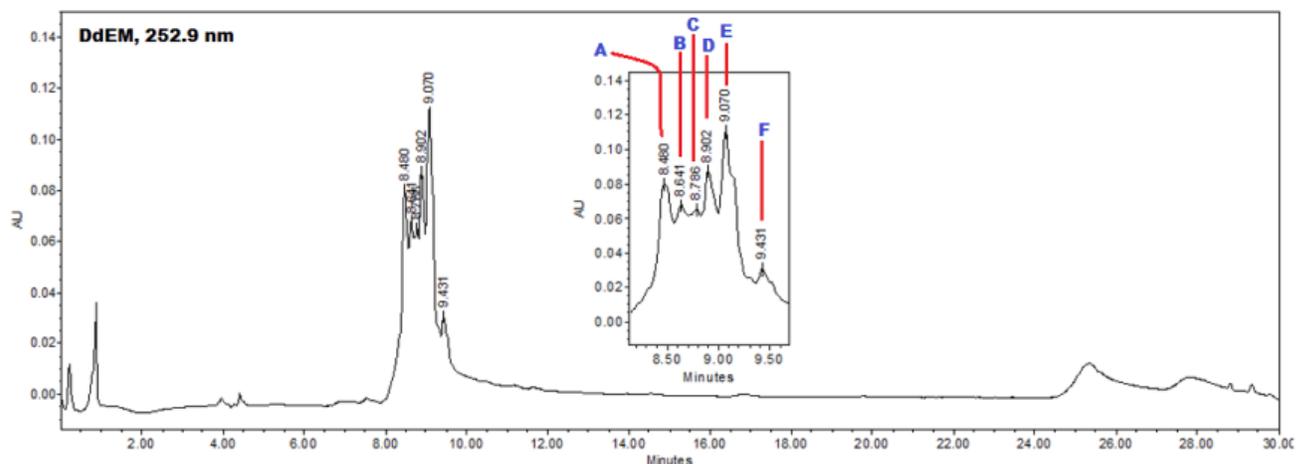
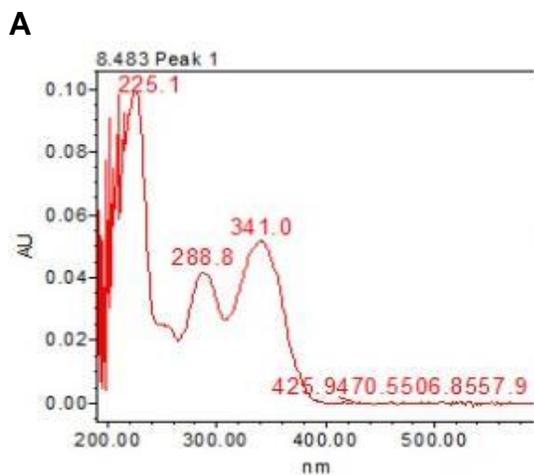
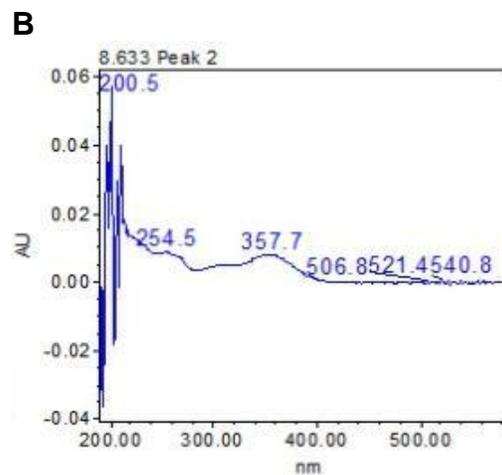


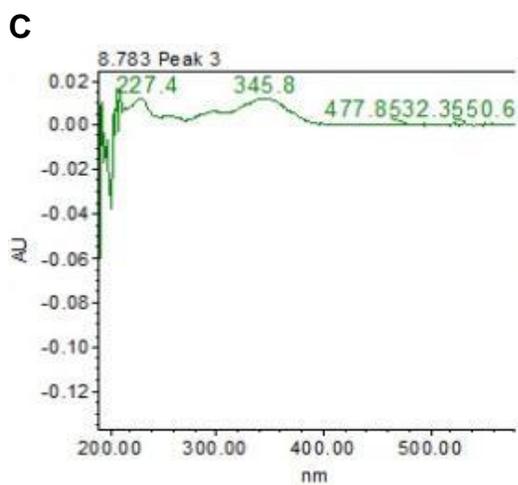
Figura 57. Cromatograma de HPLC correspondiente al extracto de metanol de las hojas de *Diospyros digyna* (DdEM). Mostrando la presencia de compuestos del tipo flavonoide, flavona (Pico A), flavonol (Pico B), flavona (Pico C), rutinosido de kaempferol (pico D), rutina (Pico E) y glucósido de luteolina (Pico F).



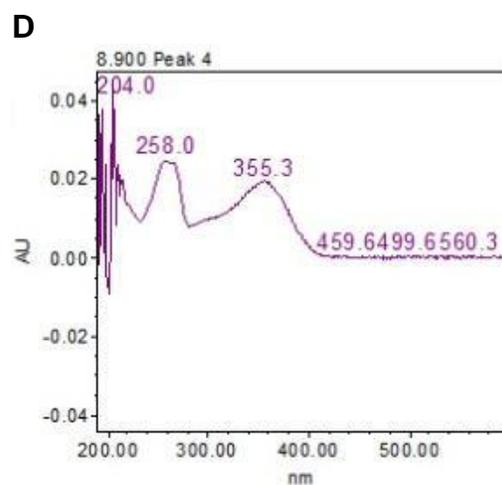
Flavona



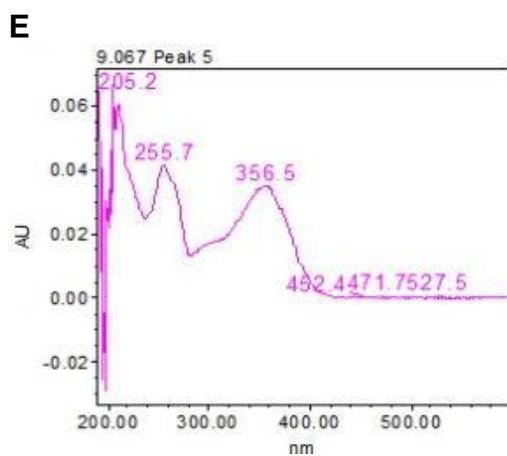
Flavonol



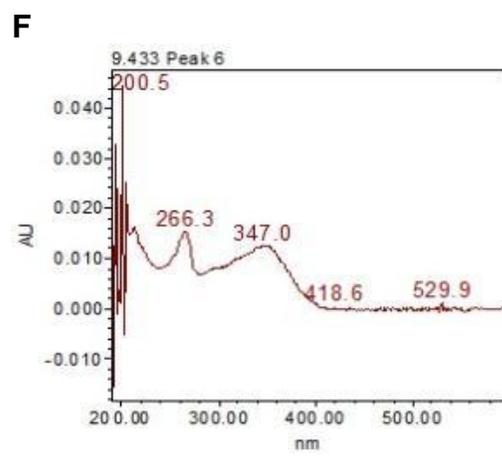
Flavona



Rutinosino de kaempferol



Rutina



Glucósido de luteolina

12. Discusión

Desde tiempos remotos hasta la actualidad, la medicina a base de hierbas ha sido una práctica común de la humanidad. Hoy en día el uso de productos aislados de especies vegetales como una alternativa importante para la salud, está ganando terreno y aún más popularidad en todos los continentes (Sen *et al.*, 2015). Sabemos de antemano, que las plantas medicinales tienen ciertas deficiencias, pero los productos naturales etnobotánicos son una alternativa frente a los fármacos convencionales (Rao *et al.*, 2019).

El género *Diospyros* es importante debido a las múltiples actividades biológicas que presenta, entre las que destacan la actividad antioxidante, antiinflamatoria, citotóxica, hepatoprotectora, analgésica, antipirética, antihipertensiva, antidiabética neuroprotectora, anticonceptiva, sedante-hipnótica, antimicrobiana, anticonvulsiva, entre otras (Awat *et al.*, 2020; Pattamaporn *et al.*, 2020). Además, se han encontrado terpenoides, ursanos, lupanos, polifenoles, taninos, hidrocarburos, lípidos, benzopironas, naftoquinonas, olenanos y taraxanos (Abdur *et al.*, 2017). Debido a los hallazgos farmacológicos encontrados en *Diospyros spp*, por sus diversas actividades biológicas y al ser una fuente rica de constituyentes químicos farmacológicamente importantes, tiene un alto potencial de indagar su acción en sistema nervioso. Para tal efecto, se emplean diferentes modelos biológicos con la finalidad de determinar la actividad ansiolítica, antidepresiva, sedante-hipnótica y anticonvulsiva, de tal forma que fue posible en este estudio, evaluar un extracto metanólico aislado de una de sus especies bien representativas del Estado de Morelos, como es el zapote negro *Diospyros digyna*, el cual es utilizado en el Sur de Morelos, para calmar los nervios (Monroy-Ortiz y Castillo-España 2007).

Cabe mencionar que los modelos farmacológicos empleados en este trabajo, para esta especie en particular no han sido reportados en la literatura. Los agonistas de los receptores de las benzodiazepinas producen cambios en el comportamiento que

concuerdan con la disminución de la ansiedad y la promoción de las actividades exploratorias (Coteur *et al.*, 2022).

El modelo murino de nado forzado (NF) es una prueba conductual ampliamente aceptada para evaluar el efecto antidepresivo (Yu *et al.*, 2022; Porsolt *et al.*, 1977; Bourin, 2015). Para la evaluación en estas pruebas el parámetro conductual es la inmovilidad, la cual refleja la desesperación conductual por ahogamiento observada directamente en la depresión humana (Taboada *et al.*, 2022; Willner *et al.*, 1984; Steru *et al.*, 1985). La literatura informa que varios fármacos antidepresivos son capaces de reducir el tiempo de inmovilidad en ratones (Avula *et al.*, 2022; Porsolt *et al.* 1977). Los resultados obtenidos, nos muestran que en el modelo de NF tanto el extracto metanólico de *Diospyros digyna* (DdEM) a las dosis de 50-250 mg/kg, como la imipramina a 15 mg/kg disminuyeron el tiempo de inmovilidad acumulado ($p < 0.001$) comparado con el vehículo, inclusive la actividad mostrada por estas dosis fue mejor que con la imipramina, antidepresivo tricíclico el cual pertenece al grupo químico de las dibenzazepinas y es el fármaco de referencia utilizado en este bioensayo. El efecto de DdEM sugiere una actividad similar a la de los antidepresivos. Los mecanismos de acción antidepresiva de los fármacos han sido reportados e incluyen, la activación de los sistemas neurotransmisores serotoninérgicos, dopaminérgicos, noradrenérgicos y γ -aminobutíricos, el aumento de la producción de factores neuronales (incluyendo el factor neurotrófico derivado del cerebro y el factor de crecimiento nervioso), alteraciones en la función del receptor de tropomiosina quinasa B y la actividad de la enzima monoamino oxidasa A (German-Ponciano *et al.*, 2018; Chang *et al.*, 2016).

En la literatura se ha reportado el efecto ansiolítico de un extracto metanólico de la planta medicinal *Canarium resiniferum*, basado en el aumento significativo del porcentaje de permanencia de los ratones en los brazos abiertos al compararlos con el grupo vehículo (Shah *et al.*, 2022). En el modelo de laberinto en forma de cruz (LEC), la administración oral (v.o.) a una dosis de 150 mg/kg del extracto metanólico de *Diospyros digyna* (DdEM) aumentó el porcentaje de permanencia en los brazos abiertos ($p < 0.001$) en comparación con el vehículo, lo cual evidencia un efecto

ansiolítico, diazepam a 1 mg/Kg aumentó el porcentaje de permanencia en brazos abiertos $p < 0.001$. Se ha informado que los roedores sistemáticamente permanecen mayor tiempo en los brazos cerrados cuando son situados en laberintos que tienen tanto brazos abiertos como cerrados (Yang *et al.*, 2022, Santos *et al.* 2012). De acuerdo con los parámetros encontrados y al análisis revisado en artículos con los mismos modelos, se ha observado que los ratones tienen una repulsión al brazo abierto lo que indica su temor, su miedo y por ende se determina que tiene una ansiedad (Rosso *et al.*, 2022). *Diospyros digyna* contiene polifenoles (Abdur *et al.*, 2017; Merino-Sánchez., 2011), se sabe que los compuestos fenólicos interactúan directamente con los sistemas neurotransmisores (Gao *et al.*, 2022). Zhang *et al.*, 2018, asociaron las actividades depresoras del sistema nervioso Central (SNC), con la presencia de triterpenoides, saponinas y flavonoides productos naturales que están presentes en el género *Diospyros* (Abdur *et al.*, 2017; Merino-Sánchez., 2011; Fareed *et al.*, 2022).

La prueba de Campo Abierto presenta también parámetros que ayudan a evaluar e identificar la presencia de actividad ansiolítica, en este modelo (CA) una mayor permanencia de los ratones en el centro del campo estaría representando una disminución en la ansiedad, teniendo así un efecto ansiolítico (Morais-Silva *et al.*, 2022). La administración del extracto metanólico de *Diospyros digyna* no presentó una diferencia significativa en comparación con el vehículo.

En el presente trabajo DdEM mostró tener un efecto anticonvulsivo en el modelo de convulsiones inducidas con pentilentetrazol, este modelo se emplea ampliamente en la búsqueda de fármacos anticonvulsivos para la detección de fármacos efectivos a nivel clínico (Ullah *et al.*, 2022). Esta actividad ya había sido presentada por la especie *Diospyros fischeri*, perteneciente también al género *Diospyros*, en una prueba de convulsiones inducidas por picrotoxina aplicada en ratones, demostrando una supresión (dependiente de la dosis) en el número de convulsiones (Abdur *et al.*, 2017). DdEM presentó una protección contra la mortalidad de los ratones en la prueba de

convulsiones inducidas con pentilentetrazol fue del 100% en todas las dosis administradas (50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg).

La prueba de potenciación del estado hipnótico del pentobarbital tuvo respuestas similares en todos los grupos, pues no se logró que los roedores expuestos a esta prueba entraran en narcosis, obteniendo una $p < 0.001$ únicamente con el control positivo en comparación con el vehículo. En datos no publicados de nuestro grupo de investigación se evaluó el extracto acetónico de *Diospyros digyna* y se obtuvo actividad sedante-hipnótica, por lo que podemos asumir que la extracción con metanol no permitió obtener extraer compuestos con esta actividad biológica ya que este efecto ya ha sido encontrado en *Diospyros lotus*, otra especie perteneciente al género *Diospyros* que exhibió un efecto significativo al realizar una prueba de actividad sedante en ratones, así como también algunas de las fracciones del extracto de cloroformo demostraron una actividad sobre la relajación muscular (Abdur *et al.*, 2017).

Por otro lado, el análisis de HPLC en este trabajo reveló por primera vez para esta especie (*Diospyros digyna*) contiene polifenoles de tipo flavonoide, estos tampoco han sido reportados para otras especies del mismo género. Se determinó la presencia de rutinósido de Kaempferol (pico D), rutina (pico E) y glucósido de luteolina (pico F), además de dos compuestos que de acuerdo a su espectro de luz ultravioleta pertenecen al grupo de las flavonas (picos A y C), el mismo análisis determinó la presencia de un flavonol (pico B), por lo que las actividades ansiolítica y antidepresiva presentadas por extracto metanólico de *Diospyros digyna* (DdEM) en este estudio, puede deberse a la presencia de fitoquímicos como los flavonoides, contenidos en este extracto polar.

Se han encontrado varias actividades biológicas de los compuestos determinados por HPLC en nuestro trabajo de investigación, por ejemplo se determinó la presencia de rutina en DdEM, la cual es un flavonoide que se encuentra en muchos alimentos y plantas medicinales, investigaciones recientes muestran que este flavonoide fue capaz de inhibir *in vitro* la fibrillogénesis y la agregación de la proteína

beta-amiloide ($A\beta$), la cual es la molécula principal de las placas seniles de los pacientes con enfermedad de Alzheimer (EA), de tal forma que es capaz de ejercer un efecto anti- beta-amiloide (Asti *et al.*, 2023). En otro trabajo de investigación en ratones C57BL/6 a los cuales se les indujo esta enfermedad vía inyecciones *i.p.* de estreptozocina (45 mg/kg/día) durante cinco días consecutivos. Cuatro semanas después de la inducción de diabetes, con un nivel de glucosa en sangre de 16,7 mm y superior en ayuno ya se consideraron diabéticos. El estudio mostró que el compuesto rutina ejerce un efecto antidiabético protegiendo las células β para aumentar la secreción de insulina y por lo tanto disminuir la glucosa sérica, así como también aliviaba las lesiones del colon en los ratones, sin embargo, la explicación de este último efecto es completamente desconocida (Cifeng *et al.*, 2023). Por otro lado, un extracto metanólico de las hojas de la planta *Gynura procumbens* probado en tejidos aislados de aorta torácica de ratas, cuyo ingrediente activo es el rutinosido de kaempferol ha demostrado tener un efecto vasodilatador actuando por la vía colinérgica, específicamente sobre los receptores muscarínicos y/o nicotínicos, mediando así, la contracción e induciendo la vasorelajación (Shahlehi y Petalcorin, 2021).

Hasta el momento se han descrito esas actividades biológicas para el rutinosido de kaempferol y la rutina, los cuales han sido determinados en nuestro extracto activo, por lo que no existe un trabajo de investigación que pueda comparar nuestros resultados con los compuestos descritos; esto abre la posibilidad de poder aislarlos y comprobar su efecto antidepresivo y anticonvulsivante de alguno de ellos.

13. Conclusiones

- Todas las dosis administradas del extracto metanólico de las hojas de *Diospyros digyna* (DdEM) (50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg), disminuyeron el tiempo de inmovilidad de los ratones en la prueba de nado forzado, mostrando que tienen un efecto antidepresivo.
- El extracto metanólico de *Diospyros digyna* (DdEM) a una dosis de 150 mg/kg incrementó el porcentaje del tiempo de permanencia de los ratones en los brazos abiertos, en el modelo de laberinto elevado en forma de cruz. Las dosis de 50, 100, 200 y 250 mg/kg no presentaron diferencias en comparación del vehículo en cuanto a, porcentaje de tiempo de permanencia, ni al porcentaje de entradas a los brazos abiertos, indicando que no induce efecto ansiolítico.
- El extracto metanólico de *Diospyros digyna* (DdEM) en ninguna de sus dosis administradas (50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg), modificó la actividad motora espontánea en la prueba de Campo Abierto (CA), indicando que no presenta efecto sedante.
- El extracto metanólico de las hojas de *Diospyros digyna* (DdEM) en ninguna de las dosis administradas (50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg) fue capaz de potenciar el estado hipnótico del pentobarbital, en la prueba de potenciación del estado hipnótico del pentobarbital.
- Todas las dosis administradas del extracto metanólico de las hojas de *Diospyros digyna* (DdEM) (50, 100, 150, 200 y 250 mg/kg), presentaron un 100% de protección contra la mortalidad de los ratones, en la prueba de convulsiones inducidas con pentilentetrazol, indicando un efecto neuroprotector.

14. Perspectivas.

A partir de los resultados obtenidos en este proyecto de investigación, se propone orientar el futuro de este trabajo en los siguientes puntos:

1. Fraccionamiento químico del extracto íntegro para la purificación de los compuestos determinados por HPLC y su posterior prueba en búsqueda de la actividad antidepresiva y anticonvulsiva. Esto con el fin de determinar los compuestos responsables de estas actividades.
2. Estudio sobre el extracto acetónico ya que, aunque presenta una similitud bastante notable en comparación con el extracto metanólico, se observó que el DdEA logró extraer la mayoría de los compuestos en *Diospyros digyna*, indicando que estos son de polaridad media-alta.
3. También sería interesante realizar un estudio comparativo entre diferentes colectas de *Diospyros digyna* alrededor de la región de Morelos, analizando si se tienen compuestos similares.
4. Realizar una comparación del extracto de mediana polaridad (DdEA) frente al de polaridad alta (DdEM) para determinar la actividad sobre el sistema nervioso que fue presentado en este estudio.

15. Referencias bibliográficas

AASM, American Academy of Sleep Medicine. (2014). International Classification of Sleep Disorders, 3rd ed. American Academy of Sleep Medicine.

Abdur Rauf, Ghias Uddin, Seema Patel, Ajmal Khan, Sobia Ahsan Halim, Saud Bawazeer, Khalid Ahmad, Naveed Muhammad, Mohammad S. Mubarak (2017): “*Diospyros*, an under-utilized, multi-purpose plant genus: A review”, ScienceDirect. ***Biomedicina y Pharmacotherapy magazine***; páginas 714-730.

Acuña Solis, Dianira y Cusi Luza, Braulio, (2013). Estudio fitoquímico cualitativo, actividad anticonvulsivante del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis boliviana* Lechler, en un modelo experimental inducido químicamente por pentilentetrazol en animales de experimentación. Tesis. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

Álamo González, Cecilio; Alonso Álvarez, María Luz; Cañellas Dols, Francesca; Martín Águeda, Belén; Pérez Díaz, Hernando; Romero Santo-Tomás, Odile; Terán Santos, Joaquín, (2016). Ministerio de sanidad. Pautas de actuación y seguimiento. REF: 97064 02/2016.

Alfonso Andrés Fernández Medina, ***Boletín 455 (26 de junio de 2019)***, “De cada 100 mexicanos, 15 padecen depresión”, UNAM.

Almaguer, J., (2009). Ley marco en materia de medicina tradicional. Comisión de salud del parlamento latinoamericano.

AMAH, *Agrovet Market* Animal Health. Penta-Hypnol. Ficha farmacéutica. Fecha de consulta: 07 junio 2023.

American Psychological Association, (2010). Trastornos de la ansiedad: el papel de la psicoterapia en el tratamiento eficaz. Fecha de acceso: 19 Abr 2023.

ANMAT, Centro colaborador de La Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica, (2013). DIAZEPAM. Fecha de consulta: 7 junio 2023

ANMAT, Centro colaborador de La Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica, (2012). IMIPRAMINA. Fecha de consulta: 7 junio 2023

Archer, J, (1973). Tests for emotionality in rats and mice: A review. ***Animal Behaviour***, 21(2), 205-235. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0003-3472\(73\)80065-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-3472(73)80065-X).

Arredondo Valdés, Roberto; Martínez Hernández, José Luis; Silva Belmares, Sonia Yesenia; Patricia Segura, Elda; Sierra Rivera, Crysel Aleyvick; Paredes Ramírez, Alma Rosa; Liná, Anna, (Octubre – Diciembre **2018**). Evaluación del potencial hipoglucemiante de infusiones vegetales de plantas empleadas en medicina tradicional mexicana. Universidad Autónoma de Coahuila. **CienciAcierta** No. 56.

Asti, Anna Lia; Crespi, Stefania; Rampino, Teresa; Zelini, Paola; Gregorini, Marilena; Pascale, Alessia; Marchesi, Nicoletta; Saucchi, Stefania; Colombani, Carla; Vitalini, Sara; Iriti, Marcello. "Yet another *in vitro* evidence that natural compounds introduced by diet have anti-amyloidogenic activities and can counteract neurodegenerative disease depending on aging". Mar **2021**. **Natural Product Research**. DOI: 10.1080/14786419.2023.2192493.

Avula SK, Khan A, Halim SA, Rehman NU, Karim N, Khan I, Csuk R, Das B, Al-Harrasi A. Synthesis and antidepressant-like effects of new 5-epi-incensole and 5-epi-incensole acetate in chronic unpredictable mild stress model of depression; behavioural and biochemical correlates. **Biomed Pharmacother**. 2022 Dec; 156:113960. doi: 10.1016/j.biopha.2022.113960. Epub **2022** Nov 5. PMID: 36411640.

Awat Wisetsai, Florian T. Schevenels y Ratsami Lekphrom (**2019**): "Chemical constituents and their biological activities from the roots of *Diospyros filipendula*, Natural Product". **Research**, DOI: 10.1080/14786419.2019.1656630

Bali ZK, Bruszt N, Kószegi Z, Nagy LV, Atlasz T, Kovács P, Csupor D, Csupor-Löffler B, Hernádi I, (28 Sep 2022). Aconitum Alkaloid Songorine Exerts Potent Gamma-Aminobutyric Acid-A Receptor Agonist Action In Vivo and Effectively Decreases Anxiety without Adverse Sedative or Psychomotor Effects in the Rat. **Pharmaceutics**. doi: 10.3390/pharmaceutics14102067. PMID: 36297502; PMCID: PMC9610616.

Barrera Robledo, María Eugenia y Vergel Hernández, Juliana, (**2021**). Manejo del trastorno depresivo ¿Qué tratamiento elegir?. **Revista Médica de Risaralda**. <https://doi.org/10.22517/25395203.24637>

Basurto Peña Francisco, Cuevas Sánchez Jesús Axayacatl, García Díaz Roger, Segura Ledesma Sergio, (**2015**). Análisis panbiogeográfico de *Diospyros spp.* (Ebenaceae) en México. **Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas**. Vól. 6. Núm 1. 187-200.

BDMTM, Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (2009). Zapote negro, zapote prieto. *Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana*. Universidad Nacional Autónoma de México. Fecha de acceso: 03 ene 2022.

Benedí, Juana; Gómez del Río, M Ángeles, (2007). Ansiedad; tratamiento farmacológico y fitoterapéutico. *Elsevier*. Vol. 21. Núm. 1. 50-55.

BNM, Biblioteca Nacional de Medicina, NIH. Enciclopedia Médica. Medicinas y suplementos. Fecha de consulta: 13 octubre 2022.

Borrás S, Martínez-Solís I, Ríos JL., (Ago 2021) Medicinal Plants for Insomnia Related to Anxiety: An Updated Review. *Planta Med*. doi: 10.1055/a-1510-9826

Bourin, M, (2015). Animal models for screening anxiolytic-like drugs: a perspective. *Dialogues in clinical neuroscience*, 17(3), 295-303.

Brinckmann, Josef A. y Lindenmaier, Michael P. Max Wichtl (Ed.). Austria 2004. "Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals." 3rd edition. *Medpharm*.

Browder Lazenby, Ramona. (2012). "Fisiopatología". *Manual Moderno*

Cantero París, D. Christian, (2018). Evidencia de la utilidad clínica del Hipérico. Universidad de Cantabria.

Chang HA, Wang YH, Tung CS, Yeh CB, Liu YP. 7,8-Dihydroxyflavone, a Tropomyosin-Kinase Related Receptor B Agonist, Produces Fast-Onset Antidepressant-Like Effects in Rats Exposed to Chronic Mild Stress. *Psychiatry Investig*. 2016 Sep;13(5):531-540. doi: 10.4306/pi.2016.13.5.531. Epub 2016 Apr 6. PMID: 27757132; PMCID: PMC5067348.

Cedillo Ildefonso, Benita. (2017) Generalidades de la neurobiología de la ansiedad. *Revista Electrónica de Psicología Iztacala*. Universidad Nacional Autónoma de México. Vol. 20, (No. 1).

Cifeng Cai, Wenwen Cheng, Tiantian Shi, Yueling Liao, Meiliang Zhou y Zhiyong Liao. "Rutin alleviates colon lesions and regulates gut microbiota in diabetic mice". 2023. *Nature Portfolio*. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31647-z>

CONABIO, Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad, (2009). Catálogo taxonómico de especies de México. 1. In Capital Nat. México.

Contreras, Andrea y Pérez, Carolina, (2021). Insomnio, en busca del tratamiento ideal: fármacos y medidas no farmacológicas. *Revista Médica Clínica Las Condes*. Vol. 32 (5), 591-602. <https://doi.org/10.1016/j.rmcl.2021.09.004>.

Corea Del Cid, M. T. (2021). La depresión y su impacto en la salud pública. **Rev. méd. hondur**, 47-52.

Coteur K, Mamouris P, Vaes B, Van Nuland M, Matheï C, Schoenmakers B. Evolution of benzodiazepine receptor agonist prescriptions in general practice: A registry-based study. **Front Public Health.** 2022 Sep 23; 10:1014734. doi: 10.3389/fpubh.2022.1014734. PMID: 36211642; PMCID: PMC9546292.

Dalton, Victoria S; Kolshus, Erik; McLoughlin, Declan M, (2014). Epigenetics and depression: return of the repressed, **Journal of Affective Disorders**, Volume 155, Pages 1-12, ISSN 0165-0327, <https://doi.org/10.1016/j.jad.2013.10.028>.

Dávila Hernández, Amalia; González González, Roberto; Liangxiao, Ma; Xin, Niu, (2016). Estudio sinomédico de la Fisiopatología de la depresión.

Dechent, C. (2008). Depresión geriátrica y trastornos cognitivos. **Revista Hospital Clínico Universidad de Chile**, 19, 339-46.

del Toro-Añel, Annia Yolanda; González-Castellanos, María de los Ángeles; Arce Gómez, Dora Lidia; Reinoso-Ortega, Silvia María; Reina-Castellanos, Lisbeth María, (2014). Mecanismos fisiológicos implicados en la ansiedad previa a exámenes. **MEDISAN**; 18(10):1419

Dua, T., Short, B. (2013). "Epilepsia en Latinoamérica". Capítulo II: Perspectiva global de la Epilepsia. pág 10-20.

EcuRed. (2018). Sapote negro. Consultado el: 03 ene 2022.

Ekiert HM, Szopa A. Biological Activities of Natural Products. *Molecules.* 2020 Dec 7;25(23):5769. doi: 10.3390/molecules25235769. PMID: 33297511; PMCID: PMC7730830.

Fareed N, El-Kersh DM, Youssef FS, Labib RM. Unveiling major ethnopharmacological aspects of genus *Diospyros* in context to its chemical diversity: A comprehensive overview. *J Food Biochem.* 2022 Sep 22: e14413. doi: 10.1111/jfbc.14413. Epub ahead of print. PMID: 36136087.

File, S. E., Kenny, P. J., y Cheeta, S, (2000). The Role of the Dorsal Hippocampal Serotonergic and Cholinergic Systems in the Modulation of Anxiety. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 66(1), 65-72. do: [http://dx.doi.org/10.1016/S0091-3057\(00\)00198-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0091-3057(00)00198-2).

Gao M, Wu Y, Yang L, Chen F, Li L, Li Q, Wang Y, Li L, Peng M, Yan Y, Yang J, Yang X. Anti-depressant-like effect of fermented *Gastrodia elata* Bl. by regulating monoamine levels and BDNF/NMDAR pathways in mice. **J Ethnopharmacol.** 2023 Jan 30; 301:115832. doi: 10.1016/j.jep.2022.115832. Epub **2022** Oct 23. PMID: 36283636.

García Alonso, Pilar y Simón Velasco, Manuela, (2016). Neurotrasmisores implicados en la epilepsia y su tratamiento. Trabajo de Fin de Grado, Universidad Complutense, Facultad de Farmacia.

Gobierno de México, (29 septiembre **2017**). Zapote Negro, fruta Mexicana con gran sabor y traidición. Fideicomiso de Riesgo Compartido. Fecha de consulta: 20 septiembre 2020.

Guadarrama, Leyla; Escobar, Alfonso; Zhang, Limei. (2006) Bases neuroquímicas y neuroanatómicas de la depresión. Revista de la Facultad de Medicina, UNAM. Vol.49 No.2 Marzo-Abril.

Harvey AL, Edrada-Ebel R, Quinn RJ. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. **Nat Rev Drug Discov.** 2015 Feb;14(2):111-29. doi: 10.1038/nrd4510. Epub 2015 Jan 23. PMID: 25614221.

Hasler, Gregor. (2010) Pathophysiology of depression: do we have any solid evidence of interest to clinicals?. **Psychiatric University Hospital,** University of Berne. 9:155-161.

Hernández Bellido, Karen Itzel (2021). Influencia de la condición endocrina sobre el efecto tipo antidepresivo y ansiolítico del agonista inverso de H3R, clobenpropit: diferencias por sexo. **Departamento de Farmacobiología,** Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.

Hornyak M, Feige B, Riemann D, Voderholzer U., (2006). Periodic leg movements in sleep and periodic limb movement disorder: prevalence, clinical significance and treatment. *Sleep Med Rev*; 10(3):169-77. doi: 10.1016/j.smr.2005.12.003.

IMSS, Instituto Mexicano del Seguro Social, (11 Febrero **2020**). Hasta siete de cada 10 derechohabientes con epilepsia logran el control de su enfermedad: IMSS. No. 072. Fecha de acceso: 20 septiembre 2021.

INEGI, Instituto Nacional de Estadística y Geografía, (2020). Población total según condición de derechohabiencia. Fecha de acceso: 20 septiembre 2021.

Ireito, R.; Rocha, J.; Sepodes, B.; Eduardo-Figueira, M. From *Diospyros kaki* L. (Persimmon) Phytochemical Profile and Health Impact to New Product Perspectives And Waste Valorization. **Nutrients** 2021, vol 13, pág 32-83.

Katz, Gregorio, Lazcano-Ponce, Eduardo, y Madrigal, Eduardo. (2017). La salud mental en el ámbito poblacional: la utopía de la psiquiatría social en países de bajos ingresos. **Salud Pública de México**, 59(4), 351-353. <https://doi.org/10.21149/8860>

Kestel, D., Acevedo, C., Medina, M.T., Mesa, T., Rodríguez, J. (2013). Capítulo I: Introducción. En: Kestel, D., Acevedo, C., Medina, M.T., Mesa, T., Rodríguez, J. Epilepsia en Latinoamérica. Documento técnico basado en las presentaciones del Taller Internacional efectuado en Santiago de Chile de 2013, y contribuciones posteriores. **Organización Panamericana de la Salud. Organización Mundial de la Salud**. Santiago de Chile, Chile. Pp. 6-9

Komulainen Ebrahim J, Schreiber JM, Kangas SM, Pylkäs K, Suo-Palosaari M, Rahikkala E, Liinamaa J, Immonen EV, Hassinen I, Myllynen P, Rantala H, Hinttala R, Uusimaa J., (2019) Novel variants and phenotypes widen the phenotypic spectrum of GABRG2-related disorders. *Seizure*; 69:99-104. doi: 10.1016/j.seizure.2019.03.010.

Lister, R, (1987). The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, 92(2), 180-185. doi: 10.1007/bf00177912.

López Naranjo, Fracisco, (2001). Estudio de la posible actividad anticonvulsiva de los extractos acuosos y alcohólico de la *Valeriana edulis* ssp procera. Tesis. Universidad autónoma metropolitana.

Manual de Diagnóstico y Estadístico de los Desórdenes Mentales. DSM-V (2013). 5ta edición. **American Psychiatric Association:** American Psychiatric Publishing.

Manville RW, Abbott GW, (Oct 2019). Cilantro leaf harbors a potent potassium channel-activating anticonvulsant. *FASEB J*. doi: 10.1096/fj.201900485R.

MARÍN-RAMÍREZ, Alonso Humberto. Detección de sintomatología de ansiedad social y factores asociados en adolescentes de Motul, Yucatán, México. **REVISTA BIOMÉDICA**, [S.I.], v. 26, n. 1, jun. 2015. ISSN 2007-8447. Fecha de acceso: 23 mayo 2022 doi:<https://doi.org/10.32776/revbiomed.v26i1.5>.

Marks, 1986; Sierra, J. C., Ortega, V., y Zubeidat, I. (2003). Ansiedad, angustia y estrés: tres conceptos a diferenciar. **Revista mal-estar e subjetividade**, 3(1), 10 59.

McArthur, R., Borsini, F. (2006). Animal models of depression in drug discovery: historical perspective. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 84:436-452.

Merino-Sánchez, L. (2011). Evaluación de propiedades físico-químicas y actividad antioxidante de zapote negro (*Diospyros digyna* Jacq). *Tesis de Maestría en Ciencias Alimentarias*. Instituto de Ciencias Básicas. Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz, México.

Mihic, S. J., Harris, R. A. (2011). Hypnotics and sedatives. In L. L. Brunton, B. A. Chabner, B. C. Knollmann (Eds.), *Goodman y Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics* (12th ed., pp. 457-480): The McGraw-Hill Companies, Inc.

Monroy-Ortiz, Columba, Castillo-España, Patricia (2007). Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos. 2da Ed. México. *Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad*. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. ISBN: 968-878-277-7

Morais-Silva G, Campbell RR, Nam H, Basu M, Pagliusi M Jr, Fox ME, Chan S, Iñiguez SD, Ament S, Cramer N, Marin MT, Lobo MK. Molecular, circuit, and stress response characterization of Ventral Pallidum Npas1-neurons. *J Neurosci*. 2022 Nov 28;JN-RM-0971-22. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0971-22.2022. Epub ahead of print. PMID: 36443000.

Morales-Pérez, Mayasil, Martínez-Torres, María del Carmen, Pérez-Cruz, Nuvia, Díaz-Matos, Ivette, & Alfonso-Hidalgo, Anayda. (2019). Intoxicación por barbitúricos, una mirada toxicológica. *Horizonte sanitario*, 18(2), 111-118. <https://doi.org/10.19136/hs.a18n2.2418>

Mounira Banasr, Jason M Dwyer, Ronald S Duman, (2011). Cell atrophy and loss in depression: reversal by antidepressant treatment, *Current Opinion in Cell Biology*, Volume 23, Issue 6, Pages 730-737. ISSN 0955-0674, <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2011.09.002>.

National Institute of Mental Health, 2021. Depresión. Departamento de salud y servicios humanos de los Estados Unidos. *NIH* 21-MH-8079S.

NCCDPHP, *National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion*. (2018). Epilepsia. Fecha de acceso: 05 ene 2022.

Niembro, A., Vázquez, M., Sánchez, O. (2010). Árboles de Veracruz. 100 especies para la reforestación estratégica. Secretaría de Educación del Estado de Veracruz. **Gobierno del Estado de Veracruz.** Veracruz, México. pp. 92-93

NINDS, National Institute of Neurological Disorders and Stroke, (2023). Epilepsy and Seizures. Fecha de access: 18 Abr 2023.

OMS, Organización Mundial de la Salud, (2019). Depresión. Fecha de acceso: 20 septiembre 2021.

OMS, Organización Mundial de la Salud, (2022). La pandemia de COVID-19 aumenta en un 25% la prevalencia de la ansiedad y la depresión en todo el mundo; Una llamada de atención a todos los países para mejorar los servicios y la ayuda en el ámbito de la salud mental. Fecha de acceso: 18 Abr 2023.

OPS, Organización Panamericana de la Salud, (2020). Depresión. Fecha de acceso 20 septiembre 2021.

Pardes, Ester, Belli, Susana, Baña, Fabiana, Contreras, Liliana, Cardoso, Estela, Costa, Liliana, Cornaló, Dora, Leal, Mariela, Martínez, Marcela, Nofal, María Teresa, y Ruibal, Gabriela. (2007). Prueba de supresión con Dexametasona 1mg en una población de individuos con normopeso, sobrepeso y obesidad: Estudio multicéntrico. **Revista argentina de endocrinología y metabolismo**, 44(2), 78-85. Consultado en 06 de junio de 2023.

Pattamaporn Wosawat, Thanaset Senawong, Nattawut Suchaichit, Natcha P. Suchaichit, Kwanjai Kanokmedhakul, Somdej Kanokmedhakul y Panawan Moosophon (2020): "Cytotoxic compounds from the stems of *Diospyros ehretioides* and their bioactivity", **Natural Product Research**, DOI: 10.1080/14786419.2020.1749610

Porsolt, R.D; Bertin, A; Jalfre, M, (Octubre 1977). Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. 327-36. PMID: 596982

Prut, L., Belzung, C, (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**, 463(1–3), 333. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01272-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01272-X).

Puri V, Kanojia N, Sharma A, Huanbutta K, Dheer D, Sangnim T. Natural product-based pharmacological studies for neurological disorders. **Front Pharmacol.** 2022 Nov 7; 13:1011740. doi: 10.3389/fphar.2022.1011740. PMID: 36419628; PMCID: PMC9676372.

Qiu T, Jiang Z, Chen X, Dai Y, Zhao H, (25 mayo 2023). Comorbidity of Anxiety and Hypertension: Common Risk Factors and Potential Mechanisms. *Int J Hypertens*. doi: 10.1155/2023/9619388. PMID: 37273529; PMCID: PMC10234733.

Ramírez-Briones, E. (2017). Caracterización fitoquímica y actividad biológica del Zapotillo negro (*Diospyros rekoii Standl*) y Zapote negro (*Diospyros digyna Jacq*). **Tesis de Doctorado en Ciencias en Biosistemática, Ecología Y Manejo de Recursos Naturales y agrícolas**. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara. Zapopan, Jalisco, México.

Ramos-Morales, F.R., Correa-Basurto, J., Saavedra-Vélez, M., Acosta Hernández, M.E., Gasca-Pérez, E., Pérez-Palacios, A., Trujillo-Ferrara, J. (2012). Modelo PTZ: un screening primario para el desarrollo de nuevas moléculas con actividad anticonvulsivante. **Archivos de neurociencias** Vol. 17 (1) 45-48.

Ramos Rodríguez, Marcos Expósito (2021). Efectos Adversos del Flumacelino: Una Revisión Sistemática. **Facultad de Ciencias de la Salud**. Universidad de la Laguna.

Rao T, Tan Z, Peng J, Guo Y, Chen Y, Zhou H, Ouyang D. The pharmacogenetics of natural products: A pharmacokinetic and pharmacodynamic perspective. **Pharmacol Res**. 2019 Aug; 146:104283. doi: 10.1016/j.phrs.2019.104283. Epub 2019 May 23. PMID: 31129178.

RFC, Revista de la Facultad de Medicina, (2016). Fisiopatología de la epilepsia. Boletín de la academia nacional de medicina de México. Vol. 59 No. 5, 37-41. Fecha de acceso: 07 de junio de 2023.

Ringdahl EN, Pereira SL, Delzell JE Jr., (2004). Treatment of primary insomnia. *J Am Board Fam Pract*. Vol. 17 (3):212-9. doi: 10.3122/jabfm.17.3.212.

Rivero Serrano, Octavio; Jiménez Correa, Ulises, (2020). Manual de trastornos del sueño. UNAM. Dirección General de Bibliotecas. LIBRUNAM 2092171.

Rodríguez Carranza R., (2015) Diazepam: Sedantes hipnóticos y ansiolíticos + Antiepilépticos. eds. *Vademécum Académico de Medicamentos*. McGraw Hill. Fecha de acceso junio 07, 2023.

Rodríguez Carranza R., (2015) Imipramina: Antidepresivos. eds. *Vademécum Académico de Medicamentos*. McGraw Hill. Fecha de acceso junio 07, 2023.

Rodríguez Orive, Gretel Laura; Cruz Hechavarria, Sergio Antonio; Machado Reyes, Iliana. (2019) Fisiopatología de la Epilepsia: genética y ambiente. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 38(1):177

Rosso M, Wirz R, Loretan AV, Sutter NA, Pereira da Cunha CT, Jaric I, Würbel H, Voelkl B. Reliability of common mouse behavioural tests of anxiety: A systematic review and meta-analysis on the effects of anxiolytics. *Neurosci Biobehav Rev*. 2022 Oct 29; 143:104928. doi: 10.1016/j.neubiorev.2022.104928. Epub ahead of print. PMID: 36341943.

SAMHSA, Substance Abuse and Mental Health Services Administration, (2023). Transtornos de ansiedad. ¿Qué es la salud mental? Fecha de consulta 30 de agosto de 2023.

Sánchez-Cárdenas AG, Navarro-Gerard C, Nellen-Hummel H, Halabe-Cherem J. Insomnio. Un grave problema de salud pública. *Rev Med Inst Mex Seg Soc* 2016;54(6):760-769.

Sarraís, F., y de Castro Manglano, P.. (2007). El insomnio. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, Vol. 30 (Supl. 1), 121-134. Fecha de consulta 07 de junio de 2023.

Sen T, Samanta SK. Medicinal plants, human health and biodiversity: a broad review. *Adv Biochem Eng Biotechnol*. 2015; 147:59-110. doi: 10.1007/10_2014_273. PMID: 25001990.

Senado de la República. 14.3% de la población Mexicana padece trastornos de ansiedad, (2017). *Coordinación de comunicación social*. Boletín Número-579.

Shah MS, Tayab MA, Rahman A, Hasan MN, Talukder MSH, Uddin AMK, Javed M, Chy MNU, Paul A, Rahman MM, Bin Emran T, Seidel V. Anxiolytic, antidepressant and antioxidant activity of the methanol extract of *Canarium resiniferum* leaves. *J Tradit Complement Med*. 2022 Aug 3;12(6):567-574. doi: 10.1016/j.jtcme.2022.07.001. PMID: 36325239; PMCID: PMC9618395.

Shahlehi, Syahira; Petalcorin, Mark I.R. "Activation of cholinergic pathway induced vasodilation in rat aorta using aqueous and methanolic leaf extracts of *Gynura procumbens*". 2021. *Biomedicine y Pharmacotherapy*. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112066>

Sierra, J. C., Ortega, V., y Zubeidat, I. (2003). Ansiedad, angustia y estrés: tres conceptos a diferenciar. American Psychiatric Association, 1994; *Revista mal-estar e subjetividade*, 3(1), 10-59.

Taboada T, Alvarenga NL, Galeano AK, Arrúa WJ, Campuzano-Bublitz MA, Kennedy ML. In Vivo Antidepressant-Like Effect Assessment of Two *Aloysia* Species in Mice and LCMS Chemical Characterization of Ethanol Extract. *Molecules*. 2022 Nov 13;27(22):7828. doi: 10.3390/molecules27227828. PMID: 36431928.

Targas, E.M. (2014). Capítulo 3. Evolución de la terapéutica medicamentosa de las epilepsias. En: Targas, E.M., Contreras-Caicedo, G., Ríos-Pohl, L. Tratamiento Farmacológico de las Epilepsias. Leitura Médica Ltda. Sao Paulo, Brasil.

VAM, Vademécum Académico de Medicamentos, (2018). Pentobarbital. Vademécum Académico de Medicamentos. Fecha de consulta: 7 junio 2024.

Valencia, Matilde; Salín, Rafael y Pérez, Rogelio. (2002). “Trastornos del dormir”. McGraw-Hill Interamericana. Capítulo “Insomnio”, pág 100-120.

Velazco-Cercas, Eliseo; Puig-Lagunes, Ángel A; Zamora-Bello, Isaac; Beltrán-Parrazal, Luis; Morgado-Valle Consuelo; López-Meraz, María-Leonor, (2017). Caracterización de las convulsiones y el status epilepticus producido por el pentilentetrazol en ratas de 14 días de edad. Neurobiología. Revista electronica. Vol. 8

Wagner, Hidelbert; Bladt, Sabine. (1996). Plant Drug Analysis. 2nd edition. Springer Berlin. Doi: <https://doi.org/10.1007/978-3-642-00574-9>

Walsh, R., y Cummins, R, (1975). Mechanisms mediating the production of environmentally induced brain changes. *Psychological Bulletin.*, 82, 986-1000.

Yang Y, Wang Y, Bian H, Yu S, Jin Y, Ye X, Li T, Huang L. Effect of evaluation timing and duration of anxiety-like behaviors induced by conditioned fear in rats: Assessment using the triple test. *Physiol Behav*. 2022 Dec 1; 257:113974. doi: 10.1016/j.physbeh.2022.113974. Epub 2022 Oct 3. PMID: 36202143.

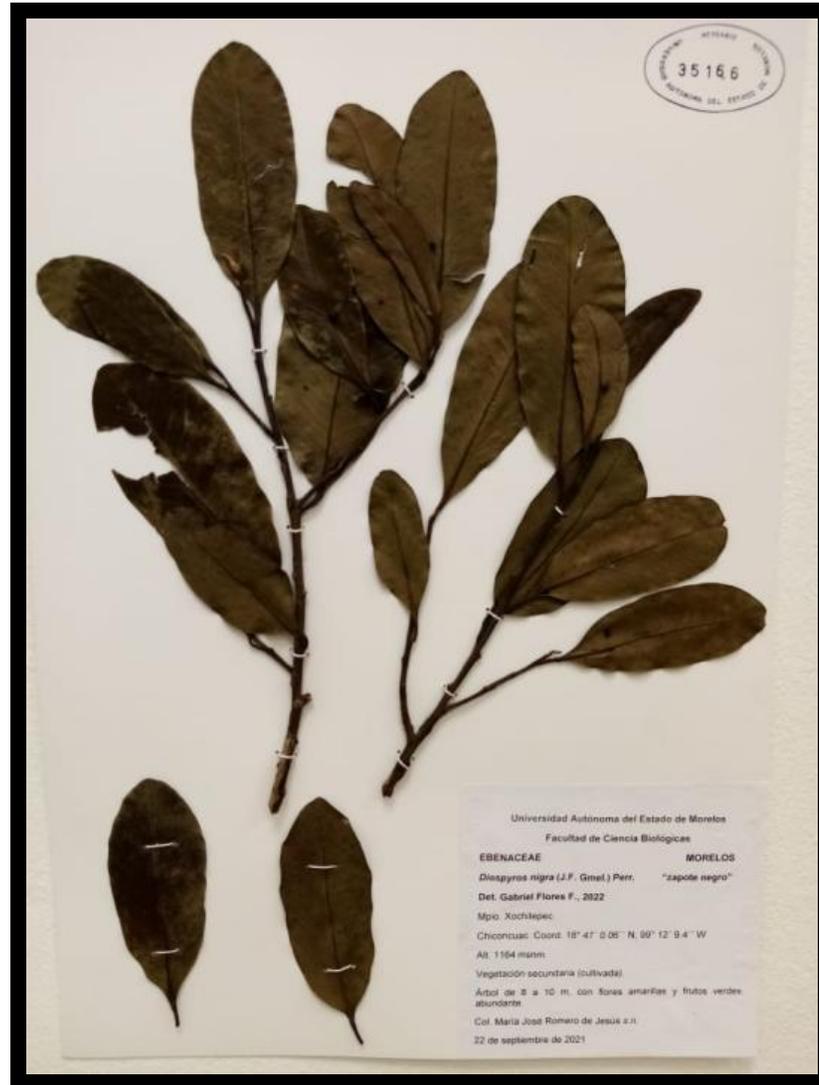
Yu H, Shao S, Xu J, Guo H, Zhong Z, Xu J. Persimmon leaf extract alleviates chronic social defeat stress-induced depressive-like behaviors by preventing dendritic spine loss via inhibition of serotonin reuptake in mice. *Chin Med*. 2022 Jun 6;17(1):65. doi: 10.1186/s13020-022-00609-4. PMID: 35668445; PMCID: PMC9172164.

Zhang Y, Zhao L, Huang SW, Wang W, Song SJ. Triterpene saponins with neuroprotective effects from the leaves of *Diospyros kaki* Thunb. *Fitoterapia*. 2018

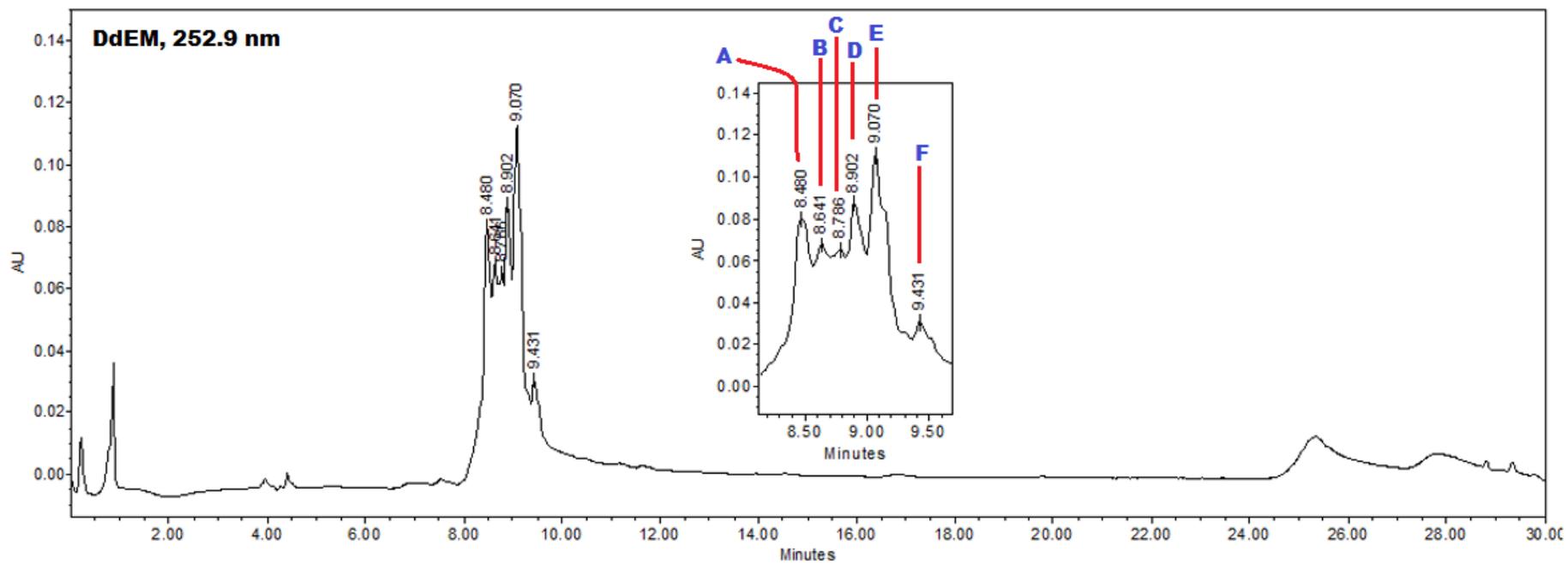
Sep; 129:138-144. doi: 10.1016/j.fitote.2018.06.023. Epub **2018** Jun 27. PMID: 29959052.

Zhang, ZJ. (2004). Therapeutic effects of herbal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders. *Life Science*. **75**, 1659-1699.

Anexo 1



Anexo 2





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Licenciatura en Biología

Programa Educativo de Calidad

Acreditado por el CACEB 2018-2023

Cuernavaca, Morelos a 30 de mayo de 2023

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **C. ROMERO DE JESÚS MARÍA JOSÉ**, con el título del trabajo: **EVALUACIÓN NEUROFARMACOLÓGICA DE LAS HOJAS DE *Diospyros digyna* Jacq.**

En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación por Tesis Profesional por Etapas como lo marca el artículo 26° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

A T E N T A M E N T E
Por una humanidad culta

JURADO REVISOR

FIRMA

PRESIDENTE: BIOL. NAYELI SÁNCHEZ GUEVARA

SECRETARIO: DRA. NAYELI MONTERROSAS BRISSON

VOCAL: DR. DAVID OSVALDO SALINAS SÁNCHEZ

SUPLENTE: DR. MANASÉS GONZÁLEZ CORTÁZAR

SUPLENTE: M. EN R.N. JUAN CARLOS JUÁREZ DELGADO

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

MANASÉS GONZÁLEZ CORTÁZAR | Fecha:2023-05-31 08:57:14 | Firmante

DI+tQbby1Kqya5Nt5u/0gHZopTgYWIRHg+tNfhiilTYHu+c42ewf7Cctf6I6hFjcf8kipL0CO3WJ4Pkb+SfmjCwHiYZjDMXWsuL0ul+BUeiBk3r/mCVCzMAIkfhvpd+tQz9H9PQs0X756wKbJNP7DRWk33+O/0j+TW6KTPtsJzXhmBr5NLhJfRMJUUK74DTLtg4o/pgO54SZsK0zVkosT/W60R5KtLpeDdkVr8jmfY55kyxXTQS8MGdWzFwaTkz31fd6hA2PWYMedNjBWpeS9FdP7ewr0yRSDnm3abq3Z9IQ13Jdx2XMkU3ssprZV7JJBV3raVPHKUzYif8cdqzmaw==

JUAN CARLOS JUAREZ DELGADO | Fecha:2023-05-31 11:01:04 | Firmante

aV/+4pKW6P3L3uBufM38od44oll5uNWSxb0fKuuvLdbBbTSQiOJFxfjz0ryh4uZmgjfkqRxIDuq2p0eFlpHvDeBqx7P5Juv0mtnLI5GOWrglFqkFI9rSMEHnodzJBSAWSnj0cpMXPvV1iKpSLRxEHAuK5N1RUYH2IR0MJ3PgAb28HhWBGKbic7yuALX7BBei/OjUEEI9MMYft62bRsZCgJHzkUX4m+wieXZTazmplKfTbGpm9IMjZL5m5ThVafEbWes7p7N7KJO5A2dT7QVOJPrnS2Ba7DnYhUeM7n6ZV7PORZbkSqcmWJPHYcB7YEshURqAI8mg4uWcW+8BI0A==

DAVID OSVALDO SALINAS SANCHEZ | Fecha:2023-05-31 15:30:09 | Firmante

ZZnH9tmnG1reshUxJb5fez4jw6odW3uGtczA5ypSUEB08WON5gSgZlR0hBkd9zl+EZjvzbIY6wkvahE6cqY5BdNCvfOX4/Lete7rbyGfL5BNzSa5yN8MIRTSvVEac8edZEX9eG/W2naZOT318+d2OngPerWX9Jdyc7iy10oCiLC7tUgylzeQiAdLUkagHfFtPKnMeytnOtnyxEZZIKPwQdf79etH1XHOI+xeU4SPnZmGJtokoMGivdhnLgE6hURZFBqrXwNjmEW9ttCsuzF22mg1eeOaYxHJae2S8pwH9WHgmbnFTCF5ih35nDssoy8wDRGKfIc3XmNA55ZrFrQw==

NAYELI SANCHEZ GUEVARA | Fecha:2023-08-14 10:25:20 | Firmante

FWFHLHE3ETzEBXoNmNA4mnevrkqH1lIdziFlwkp511YGzchDtywbz46tPz7E4vi+fXluWOFbOa3zwid/84h1B8cfxdjVw/FYhzoL36DGd4M0a3pfx+vxNmHVvAPwCuvu0KmqTusSAsJc7Bs5LpNwXWe/6RVWn7+8lWeyK7sDY4vYy4WSBp4e8Sjub+4dDOuWSgwiqdyRWHZkv2d1PLXg1sDXoJzJfaJdvG+BsQCo3zRELI7bKa8k1S0Wu5Oy81qdvQf8/sc/20EHD5FUtW+xtxtazR5J/US5eLjxdpHmw2VcRkfqWAgJorqjh81TOQmLd+XrRlZ4Z3mXy303g==

NAYELI MONTERROSAS BRISSON | Fecha:2023-10-05 14:20:29 | Firmante

VNozon/X2IR5B1du1sVofUyRgFV9HaiT1zU3cLKO06eLJ8tUPRVg6l5n1WMSnoOqynq1yJB8mJZu74OVIH6xB84ZXIDP3nh9N7HcNvrksiEKfblPhXfX8R/qaOx7dSEIYle6tLatbFg1WpQBc5GyCKjY9QSDNRs9HJ1fZEIAeOU/GxOZCxAhetFBy/Mb0hglSS0bDKTVb7wcE5zVfxBp4qh+fJ8f2746TZUowEPyLXVuA0z6bvEki40QUUsa4cai0xsuF07qDh+0ZsbOFJp30ALPxQ5O8p1T4OsHsXTSE0jiu3AqGt+48SEUixZQAZK09sj8R02qPllsldCg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[AwpGgHQvj](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/jARUG9y449TGbZuxk15u74P6glz3afTP>